

· 论 著 ·

3 种缺血修饰清蛋白试剂盒分析性能的验证试验

何 谦, 杨锐华, 王 琪

(西安交通大学第二附属医院检验科, 陕西西安 710004)

摘要:目的 验证 3 种缺血修饰清蛋白(IMA)检测试剂盒的主要分析性能。方法 在 Olympus AU5800 全自动生化分析仪上对上海艾康生物技术有限公司、浙江夸克生物技术有限公司和北京九强生物技术有限公司的比色法 IMA 试剂(试剂 A、B、C)进行性能验证,参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP6-A、EP15-A、EP7-A 文件和《WS/T 420-2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证》要求对 3 种试剂的精密度、线性范围、正确度、抗干扰能力进行评估。结果 试剂 A、B、C 的批内变异系数(CV)分别为 0.59%~0.82%, 0.27%~0.54%, 0.62%~0.69%, 批间 CV 分别为 0.98%~1.74%, 0.99%~1.01%, 0.71%~0.78%, 均小于试剂盒声明的不精密度;线性范围分别为 11~142 U/mL(相关系数 $r^2=0.993$)、10~120 U/mL($r^2=0.996$)、14~123 U/mL($r^2=0.992$), 试剂 A、B、C 的线性范围均良好。当干扰物维生素 C 小于或等于 10 mg/dL, 血红蛋白小于或等于 200 mg/dL, 总胆红素小于或等于 40 mg/dL, 三酰甘油小于或等于 500 mg/dL 时, 3 种 IMA 试剂检测结果偏差均不超过 $\pm 10\%$, 对 3 种试剂无明显干扰。结论 3 种 IMA 检测试剂盒均具有较高的精密度, 可满足临床要求, 但抗干扰能力存在一定的差异。

关键词:缺血修饰清蛋白; 比色法; 自动分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)05-0606-03

Performance verification of three ischemia-modified albumin reagents

He Qian, Yang Ruihua, Wang Qi

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an

Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710004, China)

Abstract: **Objective** To verify the performance of three kinds of ischemia-modified albumin(IMA) reagents. **Methods** The performance of three IMA reagents(labeled as reagent A, B, C) using colorimetric method from Shanghai Aikang Biotechnology Co., Ltd., Zhejiang Kuake Bioscience Technology Co. Ltd., and Beijing Jiuqiang Biotechnology Co., Ltd. were assessed by using Olympus AU5800 automatic biochemistry analyzer. According to the National Committee for Clinical Laboratory(NCCLS) EP6-A, EP15-A and EP7-A documents and WS/T 420-2013 *verification of analytical performance of quantitative kits by clinical laboratory*, the precision, linearity range, accuracy and anti-interference capability were assessed. **Results** The within-run coefficient of variations(CVs) of reagent A, B and C were 0.59%~0.82%, 0.27%~0.54% and 0.62%~0.69% respectively. The between-run CVs of reagent A, B and C were 0.98%~1.74%, 0.99%~1.01% and 0.71%~0.78%, respectively, which were lower than declarations of these reagent kits. The linearity range of reagent A, B and C were 11~142 U/mL($r^2=0.993$), 10~120 U/mL($r^2=0.996$), 14~123 U/mL($r^2=0.992$) respectively, which showed good linearities. About interference tests, no remarkable interferences(all Bias were less than $\pm 10\%$) of reagent A, B and C were detected when Vitamin C ≤ 10 mg/dL, hemoglobin ≤ 200 mg/dL, bilirubin ≤ 40 mg/dL and triglyceride ≤ 500 mg/dL. **Conclusion** The three IMA reagents show high precision, which could meet clinical requirements, nevertheless, differences of anti-interference capabilities are observed in these three reagents.

Key words: ischemia-modified albumin; colorimetric method; autoanalysis

缺血修饰清蛋白(IMA)是美国食品药品监督管理局(FDA)认可的第一个检测心肌缺血的生化标志物^[1-2],它在心肌缺血早期患者的血液中就发生变化,且在一次缺血后 24 h 内血中的浓度恢复至基础水平,因此能够检测复发性缺血。随着 IMA 临床应用的逐步推广,已有较多实验室开展了血清 IMA 的检测。本室在 Olympus AU5800 全自动生化分析仪上对 3 种清蛋白-钴结合比色法 IMA 试剂盒的精密度、线性范围、正确度、抗干扰能力等性能进行了分析评价,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 (1)干扰试验血清:收集患者混合血清用于干扰试验。(2)精密度验证混合血清:将已知 IMA 浓度的患者血清混合,制备高、低浓度两份混合血清,各分装 20 份于 -20°C 冻存,用于精密度试验。

1.2 仪器与试剂 (1)仪器:Olympus AU5800 全自动生化分析仪。(2)试剂 A:上海艾康生物技术有限公司出品的 IMA 试剂(批号 20150204)及其配套校准品;试剂 B:浙江夸克生物技术有限公司出品的 IMA 试剂(批号 150317)及其配套校准品;试剂 C:北京九强生物技术有限公司出品的 IMA 试剂(批号 14-0814)及其配套校准品。干扰物维生素 C(VitC)由美国 Sigma 公司提供(批号 080M0097V),血红蛋白(Hb)由美国 Merck 公司提供(批号 D00121602),总胆红素(TBIL)由美国 Frontier Scientific 公司提供(批号 JH12-6936),三酰甘油(TG)由华瑞制药提供(批号 80GK041)。

1.3 方法

1.3.1 批内不精密度 用 3 种试剂分别检测低值、高值两份新鲜血清样品,重复 20 次,计算各试剂两水平的批内变异,并

确认其不精密度范围是否与厂商标注的不精密度符合。

1.3.2 批间不精密度 依据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP15-A 文件^[3]提供的方案,用 3 种试剂分别测定高、低两个水平的混合血清,连续检测 5 d,每天测 4 次,计算批间变异,并确认其不精密度范围是否与厂商标注的不精密度符合。

1.3.3 线性范围评价 根据 NCCSL EP6-A 文件^[4]选择接近线性范围上限值的血清标本 2~3 份,接近下限值的血清标本 2~3 份,分别混匀,得到本实验所需的低值样品(L)和高值样品(H)。按照 0.8L+0.2H,0.6L+0.4H,0.4L+0.6H,0.2L+0.8H 的方法配制混合样品,每份样品连续测定 3 次,并求平均值。判定结果:计算均值与理论值的差异,并将均值曲线与理论曲线进行相关性分析,若相关系数 $r^2 > 0.95$,斜率(b)在 0.97~1.03 范围内,则可直接判断测定方法在实验所涉及的浓度范围内成线性。

1.3.4 干扰试验 参考 NCCSL EP7-A 文件^[5]提供的方案并进行部分调整后,将干扰物进行配制,在患者混合血清中加入一定体积的干扰物,干扰物浓度梯度 1、1/2、0,按照比例在患者血清中加入 VitC、Hb、TBIL、TG;用试剂 A、B、C 分别测定每个浓度混合血清,计算添加干扰物后测量的偏差(Bias)。超过±10%则判为存在干扰。

1.3.5 正确度验证 根据《WS/T 420-2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证》^[6]这一行业标准,检测厂家提供的定值 IMA 质控品,计算偏差。超过±10%则判为存在偏差。

1.4 统计学处理 采用 Excel2003 及 SPSS16.0 统计软件进行数据处理与统计学分析,相关性分析采用 Pearson 相关分析,线性回归采用简单线性回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 批内不精密度 3 种试剂的实测精密度均小于各自试剂盒标注的 5%~10%,变异较小,可满足临床应用。低值与高值血清检测结果及批内变异系数(CV),见表 1。

表 1 3 种试剂的批内不精密度

试剂	重复次数 (n)	低值血清		高值血清	
		IMA 平均水平 ($\bar{x} \pm s, U/mL$)	批内 CV (%)	IMA 平均水平 ($\bar{x} \pm s, U/mL$)	批内 CV (%)
试剂 A	20	60.06±0.35	0.59	80.65±0.66	0.82
试剂 B	20	58.71±0.16	0.27	77.02±0.42	0.54
试剂 C	20	56.79±0.35	0.62	75.40±0.52	0.69

2.2 批间不精密度 实测批间精密度均小于各自试剂盒标注的 5%~10%,可满足临床应用。低值与高值血清检测结果及批间 CV,见表 2。

表 2 3 种试剂的批间不精密度

试剂	重复次数 (n)	低值血清		高值血清	
		IMA 平均水平 ($\bar{x} \pm s, U/mL$)	批内 CV (%)	IMA 平均水平 ($\bar{x} \pm s, U/mL$)	批内 CV (%)
试剂 A	20	76.79±1.33	1.74	85.17±0.84	0.98
试剂 B	20	70.13±0.71	1.01	85.94±0.85	0.99
试剂 C	20	67.21±0.52	0.78	85.61±0.61	0.71

2.3 线性范围 试剂 A、B、C 评价的样品浓度范围分别为 11~142 U/mL、10~120 U/mL、14~123 U/mL,预期值与实测值拟合相关方程 $Y = bX + a$ 中 b 分别为 0.982、0.993、1.007, r^2 分别为 0.993、0.996、0.992,试剂 A、B、C 的线性范围均良好。

2.4 干扰试验 VitC≤10 mg/dL, Hb≤200 mg/dL, TBIL≤40 mg/dL, TG≤500 mg/dL 时,3 种 IMA 试剂检测结果偏差均不超过±10%,但抗干扰能力存在一定差异。见表 3。

表 3 不同浓度干扰物对 IMA 检测结果产生的 Bias(%)

干扰物	试剂 A	试剂 B	试剂 C
VitC (mg/dL)			
10	0.94	-8.56	-5.81
5	0.54	-7.02	-4.00
Hb (mg/dL)			
200	0.95	-1.65	-0.26
100	0.27	-0.38	-0.26
TBIL(mg/dL)			
40	-0.54	-2.83	0.77
20	-0.27	-1.8	1.02
TG(mg/dL)			
500	1.10	-2.54	-1.31
250	0.55	-2.03	-1.31

2.5 正确度 检测各试剂厂家提供的定值质控品,靶值偏差分别为-8.82%、9.30%、-4.49%,均在质控范围内。

3 讨论

按照国际标准化组织(ISO)发布的 ISO15189 要求,临床实验室在使用新试剂之前需要对多项重要性能进行验证。性能验证实验需要简明、可操作性强的实验方案,使用尽可能少的标本数,并得到能够代表临床检测真实情况的实验结果。美国临床实验室改进修正法案(CLIA'88)明确提出临床实验室可只对正确度、精密度和可报告范围进行验证。为证实 3 种 IMA 定量试剂盒基本性能的可靠性,笔者依据 NCCLS 发布的 EP15-A、EP6-A 文件及《WS/T 420-2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证》的要求,对 3 种试剂盒的上述主要分析性能进行了验证。结果显示:3 种试剂精密度、线性范围及正确度等基本检测性能均可以满足临床检测需求。

本室还参考 NCCLS EP7-A 文件对 3 种 IMA 试剂的抗干扰能力进行了分析评价。本研究采用外源添加 VitC、TBIL、Hb 及 TG 4 种常见干扰物的方法对 IMA 试剂进行了干扰测试,结果显示:3 种试剂的抗干扰能力不一,试剂 A 抗干扰能力最强,试剂 B 对 VitC 的抗干扰能力最弱。

根据《WS/T 420-2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证》要求,采用患者标本与其他检验方法的试剂盒进行比较,或者采用参考物质进行正确度验证试验。由于目前无法购得其他检验方法的试剂盒,且室间质评物质、第三方提供的赋值物质均无法得到,笔者使用了文件推荐的各厂家提供的验证正确性的质控物质进行正确度验证实验,结果均低于厂家声明的允许 Bias 范围(10%)。

综上所述,3 种测定 IMA 的试剂盒均具有较高的精密度、正确度,线性范围良好,可满足临床要求,但抗(下转第 610 页)

表 6 各临床指标阳性率的比较 (n=958)

检测项目	男性阳性 例数(n)	女性阳性 例数(n)	总阳性 例数(n)	总阳性率 (%)
C ¹³ 呼气试验	329	152	481	50.20*
PG I	340	216	556	58.00*
PGR	33	21	54	5.60*
CEA	7	7	14	1.50*
CA125	0	0	0	0.00*
CA199	5	3	8	0.84*
CA242	0	4	4	0.42*
CA724	4	6	10	1.04*
C ¹³ 呼气试验+PG I+PGR	508	279	787	82.20
C ¹³ 呼气试验、PGI、PGR 和各项 TM 指标联合检测	514	279	793	82.80

*: P<0.05, 与 C¹³呼气试验+PG I+PGR 总阳性率比较。

3 讨 论

胃癌是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤,我国胃癌发病率较高,以 40~60 岁多见,发病率和病死率男性均高于女性^[2]。胃癌早期无明显症状,患者就诊时通常已发展至晚期,我国早期胃癌的检出率为 5%~20%,明显低于日本和韩国的检出率(50%)。胃癌的发病率随年龄的增长而升高,目前尚无简便、准确的方法对全体人群进行筛查。而胃癌在 40 岁以下人群中发病率较低,因此建议 40 岁为胃癌筛查的起始年龄。

PG 是胃黏膜萎缩的标志物,人体内胃蛋白酶原分为 PG I 和 PG II。本文研究发现,随着年龄增长血清 PG I、PG II 水平逐渐升高,PGR 缓慢下降,这说明随着年龄增长,血清 PG II 升高幅度大于 PG I。这可能是因为 PG I 由胃底腺的主细胞和颈黏液细胞分泌,而 PG II 除由主细胞和颈黏液细胞分泌外,幽门腺和十二指肠腺亦可产生,随着年龄增长,慢性胃炎发病率、胃黏膜萎缩程度有一定的增加,造成 PG II 升高幅度大于 PG I,导致 PGR 下降。

同时,本研究发现 C¹³呼气试验阳性的体检者血清 PG I、PG II 水平高于阴性者,PGR 低于阴性者,这与席晓燕^[3]的研究结果一致。Hunter 等^[4]研究发现,慢性胃炎患者根除幽门螺杆菌(Hp)后,血清 PG II 水平明显下降,PG I 水平轻度下降,认为 Hp 感染可引起胃黏膜炎症,机体产生的细胞因子导致 PG II 基因表达上调,PG II 升高幅度大于 PG I,造成 PGR

下降。

近年来,血清 PG 在胃癌筛查中的作用日益受到重视。Dinis-Ribeiro 等^[5]以血清 PG I <70 ng/mL 且 PGR<3.0 为标准,对胃癌的灵敏度和特异度分别为 84.6%和 73.0%。本研究显示,在体检人群中,男、女血清 PG 阳性率比较差异无统计学意义(P>0.05)。在小于 40 岁的人群中,男、女 PG 阳性率均为 0.0%,这与胃癌在 40 岁以下人群中发病率较低的流行病学特征一致。同时,本研究显示,PG 阳性率与 C¹³呼气试验阳性率比较,差异无统计学意义(P>0.05)。

血清 TM 检测是胃癌筛查中患者较易接受的方法之一。但是,由于血清 TM 的多样性及低特异性,限制了其在胃癌早期检测中的应用^[6]。本文通过对各临床指标阳性率进行比较发现,C¹³呼气试验和血清 PG 联合检测阳性率明显高于单项检测(P<0.05),但是 C¹³呼气试验、血清 PG 和 TM 联合检测阳性率与 C¹³呼气试验和血清 PG 联合检测阳性率比较,差异无统计学意义(P>0.05)。

综上所述,在大于或等于 40 岁的人群中,通过 C¹³呼气试验和胃蛋白酶原检测结果,对胃癌患病风险进行分层,并对不同风险的人群采取有区别的内镜检查,一方面可提高早期胃癌的检出率,另一方面可减少不必要的血清 TM 检测,避免不必要的花费。

参考文献

- [1] Mukoubayashi C, Yanaoka K, Ohata H, et al. Serum pepsinogen and gastric cancer screening[J]. Intern Med, 2007, 46(6): 261-266.
- [2] 陈灏珠,林果为. 实用内科学[M]. 13 版. 北京:人民卫生出版社, 2009:1989.
- [3] 席晓燕. 上海体检人群胃蛋白酶原水平及与幽门螺杆菌感染的相关性[J]. 江苏预防医学, 2015, 26(1): 32-34.
- [4] Hunter FM, Correa P, Fontham E, et al. Serum pepsinogens as markers of response to therapy for Helicobacter pylori gastritis[J]. Dig Dis Sci, 1993, 38(11): 2081-2086.
- [5] Dinis-Ribeiro M, Yamaki G, Miki K, et al. Meta-analysis on the validity of pepsinogen test for gastric carcinoma, dysplasia or chronic atrophic gastritis screening[J]. J Med Screen, 2004, 11(3): 141-147.
- [6] 华子辰,朱正伦,朱正纲. 血清肿瘤标志物在胃癌诊疗中的应用[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2014, 34(9): 1411-1416.

(收稿日期:2015-11-26)

(上接第 607 页)

干扰能力存在一定的差异。

参考文献

- [1] 吴定昌,黄晓华,卢新光. 急性冠脉综合征患者 IMA 与 hs-CRP、cTnT 诊断价值[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2013, 34(9): 1259-1261.
- [2] Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuyzen K, et al. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin and troponin I [J]. Am Heart J, 2001, 141(6): 985-991.

- [3] National Committee for Clinical Laboratory. EP15-A User demonstration of performance for precision and accuracy[J]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2001.
- [4] National Committee for Clinical Laboratory. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [5] National Committee for Clinical Laboratory. EP7-A Interference testing in clinical chemistry[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- [6] 中华人民共和国卫生部. WS/T 420-2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证[M]. 北京:中国标准出版社, 2013.

(收稿日期:2016-01-12)