

## • 论 著 •

罗氏尿微量清蛋白检测试剂盒性能评价<sup>\*</sup>黄勤烽, 黄少铃, 王美珠, 陈 敏<sup>△</sup>

(南京军区福州总医院检验科, 福州 350025)

**摘要: 目的** 评价罗氏第 2 代尿微量清蛋白(ALBU2)在 Cobas 8000 C702 全自动生化分析仪上的检测性能。方法 (1) 精密度评价: 以 CLIA'88 规定的允许误差 TEa 为依据, 要求重复精密度  $<1/4$  TEa, 中间精密度  $<1/3$  TEa; (2) 线性范围及可报告范围评价: 采用 EP6-A 方案, 并延伸计算平均稀释回收率, 以平均稀释回收率在 90%~110%, 评价临床可报告范围; (3) 携带污染评估: 评估血清清蛋白对尿微量清蛋白检测的携带污染, 以携带污染率  $\leq 0.5\%$  标准判定; (4) 方法比对分析: 以 Siemens BN II 为参考系统, 将罗氏 Cobas 8000 C702 与 BN2 结果进行相关性比对分析。结果 重复精密度: 低浓度 CV 为 1.98%, 高浓度 CV 为 1.64%; 中间精密度: 低浓度 CV 为 4.35%, 高浓度 CV 为 1.20%。线性范围验证: 测量范围为 5.6~413.55 mg/L; 临床可报告范围: 最大稀释倍数为 30 倍, 临床可报告范围为 5.6~12 406.5 mg/L。携带污染率: 血清清蛋白(42.6 g/L)对尿液微量清蛋白(6.9 mg/L)的携带污染率为 0.28%。室内比对: 标本浓度在 200 mg/L 时, 回归直线为  $Y=0.896X+5.049$ ,  $r^2=0.9944$ , 医学决定水平处系统偏移通过; 当标本浓度在 201~413.55 mg/L 时, 回归直线为  $Y=0.848X-10.44$ ,  $r^2=0.917$ , 医学决定水平处系统偏移未通过。结论 罗氏 ALBU2 在 Cobas 8000 C702 平台上检测能满足临床的需求, 不同仪器间的比对, 在不同浓度范围内有差异, 应根据各自仪器的系统建立独立的参考范围。

**关键词:** 尿微量清蛋白; 精密度; 线性范围; 可报告范围; 携带污染; 特定蛋白仪

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.003

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)15-2055-03

Performance evaluation on Roche urine trace albumin detection reagent kit<sup>\*</sup>HUANG Qinfeng, HUANG Shaoling, WANG Meizhu, CHEN Min<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou, Fujian 350025, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the detection performance of the cobas8000 c702 fully automatic biochemical analyzer for detecting the second generation Roche urine trace albumin (ALBU2). **Methods** (1) The precise evaluation: with the allowable error stipulated by CLIA 88 as the basis, the requirements were the repeat precision  $<1/4$  TEa, and intermediate precision  $<1/3$  TEa; (2) the linear range and the evaluation of the reportable range: the EP6-A scheme was adopted, and extend to calculate the average recovery rate of dilution, the clinical reportable range was evaluated by the average dilution recovery of 90%~110%; (3) the carry over pollution assessment: the carry over pollution of serum albumin on urine trace albumin detection was evaluated by the judgment standard of carry over pollution rate of 0.5%; (4) the methodological comparative analysis: with SIEMENS BN II as the reference system, the Roche Cobas 8000 C702 and the BN2 results were performed the correlation contrastive analysis. **Results** The repeat precision: low concentration CV=1.98%, high concentration CV=1.64%; intermediate precision: low concentration CV=4.35%, high concentration CV=1.20%; the linear range verification: the measurement range 5.6~413.55 mg/L; clinical reportable range: in the maximum diluted multiples of 30 times, the clinical reportable range was 5.6~12 406.5 mg/L; the carry over pollution rate: serum albumin (42.6 g/L) on urine trace albumin(6.9 mg/L), the carry over pollution rate was 0.28%; the indoor comparison: in the concentration within 200 mg/L, the regression line was  $Y=0.896X+5.049$ , the correlation coefficient  $r^2=0.9944$ , the system shift was passed at the medical decision level. When the specimen concentration within 201~413.55 mg/L, the regression line was  $Y=0.848X-10.44$ , the correlation coefficient  $r^2=0.917$ , the system shift was not passed at the medical decision level. **Conclusion**

The detection of the Roche ALBU2 in the Cobas 8000 C702 platform can meet the clinical needs, the comparison among different instruments has difference in different concentration ranges, therefore the independent reference ranges should be established according to the each instrument system.

**Key words:** urine trace albumin; precision; linear range; reportable range; carry over pollution; specific protein instrument

尿微量清蛋白作为早期肾损伤的敏感指标, 在诊断糖尿病肾病、原发性高血压以及冠状动脉病变程度等都有重要意义<sup>[1-4]</sup>。为消除饮水对结果的影响, 临床检验当中常以尿微量清蛋白/尿肌酐比值, 尿微量清蛋白联合胱抑素 C 以及  $\beta_2$ -微球蛋白作为临床诊断、病程监测的可靠指标<sup>[5-7]</sup>。目前临床测定尿微量清蛋白的方法学主要是免疫比浊法, 它具有准确性高、

灵敏度高、特异性强的特点<sup>[8]</sup>。本次试验主要在罗氏 Cobas 8000 C702 全自动生化分析仪平台上, 对罗氏第 2 代尿微量清蛋白试剂(ALBU2)进行性能评价。

## 1 材料与方法

**1.1 一般资料** 分别准备 2 份浓度接近医学决定水平的新鲜尿液标本, 用作精密度试验; 2 份浓度接近厂家声明线性范围

\* 基金项目: 福建省 2012 年重点科技项目(2012Y0058)。

作者简介: 黄勤烽, 男, 主管检验技师, 主要从事临床生化检验。

△ 通讯作者, E-mail: fzemin@qq.com。

(0~400 mg/L)上下限的新鲜尿液标本,用作线性范围验证;1份浓度接近线性范围下限的新鲜尿液标本及1份清蛋白浓度在线性范围内的血清标本,用作携带污染试验;40份浓度覆盖线性范围的新鲜尿液标本,用作比对试验。

**1.2 仪器与试剂** 罗氏 Cobas 8000 C702 全自动生化分析仪,西门子 BN II 特定蛋白仪。罗氏 ALBU2 试剂(批号 607851),西门子尿微量清蛋白试剂(批号 153996C)。罗氏 ALBU2 校准品(C-PUC,批号 176516),质控品(Precinorm PUC,批号 176517/176518);西门子尿微量清蛋白校准品(批号 083604)。

### 1.3 方法

**1.3.1 精密度评价** 重复精密度:选择接近医学决定水平标本2份,在2h内各重复测定20次,计算其均值( $\bar{x}$ )、标准差(s)与变异系数(CV)。要求所检测数据超出 $\pm 2s$ 的数据不超过2个,且重复精密度 $<1/4\text{TEa}$ 。中间精密度:依照 CLSI 的 EP15 文件要求,罗氏 Precipath PUC 高低2个水平,按每天4批,每批2个水平,每批间隔2h,连续测5d,计算其 $\bar{x}$ 、s与CV,中间精密度 $<1/3\text{TEa}$ 。

**1.3.2 线性范围验证** 依照 CLSI 的 EP6-A 文件要求,取两个接近厂家声明线性范围(0~400 mg/L)上下限的新鲜尿液,按1L,0.9L+0.1H,0.8L+0.2H,0.7L+0.3H,0.6L+0.4H,0.5L+0.5H,0.4L+0.6H,0.3L+0.7H,0.2L+0.8H,0.1L+0.9H,1H 的比例配制成11个系列浓度标本,重复测定3次,在短时间内测定完成。统计数据,剔除离群值,采用多项式回归作为分析的评价方法,以实测值为Y,各浓度点为X,使用 EXCEL 软件进行二元一次、二元二次、二元三次多项式回归分析,选择最小标准误差的拟合曲线为最适模型。计算最适模型在每个浓度处的预期值,其与线性模型的偏离(Dli)应 $<1/2\text{TEa}$ 。

**1.3.3 可报告范围验证** 一份高浓度的新鲜尿液,浓度落在线性范围内,用厂家推荐的稀释液(生理盐水)进行5、10、20、30、40倍稀释,每个浓度重复测3次,以样品原倍结果作为预期值,稀释后测定的结果为检测值,计算各稀释倍数的回收率,应在90%~110%。

**1.3.4 携带污染** 根据 CNAS CL-31《实验室质量和能力认可在临床生化检测领域的应用》说明,取一份血清标本,连续测3次血清清蛋白,结果分别记录为H1、H2、H3;另取一份新鲜尿液标本,连续测3次尿微量清蛋白,结果分别记录为L1、L2、L3;计算公式:携带污染率 $=(L1-L3)/(H3-L3) \times 100\%$ ,携带污染率 $\leq 0.5\%$ 判定符合要求。

**1.3.5 不同系统间的比对** 以 BN II 为参考系统,准备40份新鲜尿液标本,分析包括正常(浓度在5.6~200 mg/L)和异常(浓度在201~413.55 mg/L),浓度覆盖全线性范围,在短时间内全部测定完成。结果采用线性拟合的方式,评估相关性,计算比对仪器和基准仪器之间的回归方程,相关系数( $r^2$ ),通过回归方程,计算医学决定性水平处的偏移,若偏移小于1/2TEa,则比对通过。

**1.4 统计学处理** 采用 EXCEL 2007 软件分析数据。

## 2 结 果

### 2.1 精密度评价

**2.1.1 重复精密度** 按 CLIA'88 要求,MAU 分析允许的最大总误差(TEa)为 $\pm 20\%$ ,医学决定水平水平1为25 mg/L,水平2为100 mg/L,重复精密度要求 $<1/4\text{TEa}$ ,见表1。

**2.1.2 中间精密度** 按 CLIA'88 要求,中间精密度要求 $<1/3\text{TEa}$ ,见表2。

表 1 ALBU2 重复精密度分析

标本	$\bar{x}$ (mg/L)	s	CV(%)	1/4TEa	结论
水平 1	26.83	0.53	1.98	5.00	符合
水平 2	95.94	1.57	1.64	5.00	符合

表 2 ALBU2 中间精密度分析

标本	$\bar{x}$ (mg/L)	s	CV(%)	1/3TEa	结论
水平 1	30.31	1.32	4.35	6.67	符合
水平 2	115.55	1.39	1.20	6.67	符合

**2.2 线性范围验证** 依照 CLSI 的 EP6-A2 文件的要求,数据拟合的最佳形式为多项式,多项式与直线拟合的偏差在每个浓度点均小于可接受范围,可接受范围 $<1/2\text{TEa}$ ,见图1。多项式拟合与直线拟合的差值(%)分布图(上下限分别为0±1/2TEa)见图2。拟合后,ALBU2 线性从1到11点成线性,分析测量范围5.6~413.55 mg/L,符合厂家申明要求。

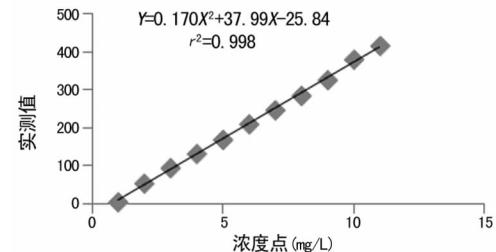


图 1 ALBU2 线性范围验证多项式拟合

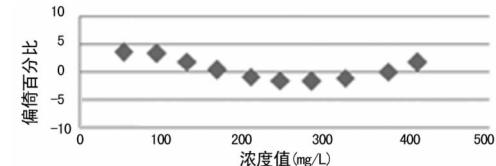


图 2 ALBU2 多项式拟合拟合与直线拟合的差值(%)分布图

**2.3 可报告范围** 标本经5~40倍稀释后,回收率落在90%~110%的最大稀释倍数为30倍,故其可报告范围为5.6~(413.55×30)mg/L,可以满足临床需求,见表3。

表 3 ALBU2 可报告范围验证

稀释倍数	实测均值(mg/L)	预期浓度(mg/L)	回收率(%)	结论
5	78.0	72.42	107.71	通过
10	39.8	36.21	109.91	通过
20	18.3	18.11	101.08	通过
30	13.1	12.07	108.53	通过
40	8.0	9.05	88.37	未通过

**2.4 携带污染** 数据分析血清清蛋白未对尿微量清蛋白测定造成携带污染,携带污染率 $\leq 0.5\%$ ,罗氏 Cobas 8000 C702 平台在清洗防止携带污染上满足临床需求,见表4。

**2.5 比对试验** ALBU2 浓度 5.6~200 mg/L 线性拟合后,回归方程  $Y=0.896X+5.049$ ,  $r^2=0.9944$ ,计算医学决定性水平处的偏移,偏移小于1/2TEa,比对通过,见图3。ALBU2 浓度 201~413.55 mg/L 线性拟合后,回归方程  $Y=0.848X-$

10.44,  $r^2=0.917$ , 计算医学决定性水平处的偏移, 偏移大于 1/2TEa, 比对未通过, 见图 4。

表 4 ALBU2 与血清清蛋白携带污染验证

项目	H1	H2	H3	L1	L2	L3
实测均值(mg/L)	42.8	42.5	42.6	6.9	7.0	6.8
携带污染率(%)				0.28		

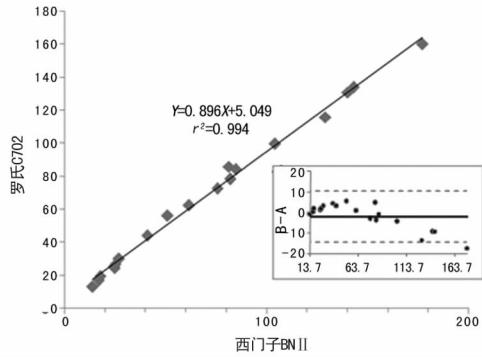


图 3 罗氏 C702 与西门子 BN II 在  $\leq 200 \text{ mg/L}$  的比对

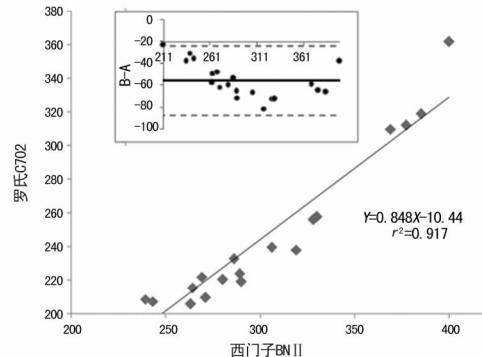


图 4 罗氏 C702 与西门子 BN II 在  $201 \sim 413.55 \text{ mg/L}$  的比对

### 3 讨 论

罗氏 Cobas 8000 C702 全自动生化分析仪, 是一款新型生化免疫一体化分析平台, 具有良好的性能<sup>[9]</sup>。罗氏 ALBU2 配置有微量清蛋白抗原过剩检测试剂盒, 在采用清蛋白检测试剂盒完成比浊反应后, 加入微量清蛋白抗原过剩检测试剂作为第 3 种试剂, 并对由此产生的吸光度变化进行评估, 如果测出的吸光度超出了范围, 仪器将进行自动预稀释, 因此提高了检测的速率, 同时又降低了成本。

根据试验分析表明, 罗氏 ALBU2 重复精密度  $<1/4\text{TEa}$ , 中间精密度  $<1/3\text{TEa}$ , 符合要求, 线性范围验证为  $5.6 \sim 413.55 \text{ mg/L}$ , 最大稀释倍数 30 倍, 可报告范围符合  $5.6 \sim (413.55 \times 30) \text{ mg/L}$ , 符合厂家申明要求以及临床需求。由于不同的仪器间, 其仪器在清洗防止携带污染不尽相同, 以罗氏 Cobas 8000 C702 平台分析尿微量清蛋白, 血清清蛋白对尿微量清蛋白的携带污染率  $\leq 0.5\%$ , 满足 CNAS CL-31《实验室质量和能力认可在临床生化检测领域的应用》说明。本次试验以西门子 BN II 特定蛋白仪器为参考系统, 试剂校准品为原装配套检测系统, 具备完整的溯源体系。标本浓度分布在 200

$\text{mg/L}$  以内时有较好的相关性, 医学决定水平处偏移通过; 当浓度超过  $200 \text{ mg/L}$  时相关性较差, 医学决定水平处偏移未通过。分析可能原因是西门子 BN II 尿微量清蛋白每批试剂的线性范围不一致, 本批号线性为  $2.08 \sim 66.7 \text{ mg/L}$ , 因此稀释倍数越大, 误差偏移就越大。有文献以西门子 BN II 特定蛋白仪器为参考系统, 在奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪上评价深圳迈瑞尿微量清蛋白试剂性能, 在线性范围内有很好的相关性, 未出现随着浓度增高, 比对相关性差<sup>[10]</sup>。

综合上述试验数据分析, 罗氏 ALBU2 具有良好的精密度, 线性范围也较特定蛋白仪宽, 最大稀释倍数较高, 可报告范围宽, 与西门子 BN II 特定蛋白仪比对, 在  $200 \text{ mg/L}$  浓度内有很好的相关性, 能满足临床检验要求。目前罗氏全自动生化分析仪在各大医院有较大的推广率, 能在生化仪上准确测定微量清蛋白, 对减少标本周转差错及快速出具结果都大有益处。因此以罗氏全自动生化分析仪来测定尿微量清蛋白具有测定快速、简便, 价格便宜的优点, 但是应建立罗氏 ALBU2 独立的参考系统。

### 参考文献

- [1] 谭琳琳, 任君, 陈修祝, 等. 尿微量白蛋白检测在糖尿病肾病早期诊断的意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(10): 1012.
- [2] 鹿新红, 方海荣. 570 例糖尿病患者尿微量白蛋白测定结果分析 [J]. 中国现代医生, 2008, 46(23): 119-120.
- [3] 杨可. 尿微量白蛋白检测在老年高血压患者早期肾损害中的临床价值 [J]. 中国卫生标准管理, 2015, 6(3): 48-49.
- [4] 艾民, 颜昌福, 夏福纯, 等. 冠心病患者尿微量白蛋白水平与冠状动脉病变程度的相关性研究 [J]. 四川医学, 2015, 36(10): 1379-1381.
- [5] Peralta CA, Shlipak MG, Judd S, et al. Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality [J]. JAMA, 2011, 305(15): 1545-1552.
- [6] Ireland R. Chronic kidney disease: use of urine albumin and cystatin C levels improves risk stratification in chronic kidney disease [J]. Nat Rev Nephrol, 2011, 7(6): 301-304.
- [7] 刘冬牯. 尿微量白蛋白和  $\beta$ -微球蛋白联合检测在早期糖尿病肾病患者中的应用价值 [J]. 当代医学, 2015, 21(13): 76-77.
- [8] 徐艳. 尿液分析仪检测尿蛋白与尿微量白蛋白测定结果比对分析 [J]. 中外医疗, 2013, 32(31): 182-184.
- [9] 梅旭, 刘政, 邱广斌. 罗氏 Cobas 8000 全自动生化分析仪的性能验证 [J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(16): 2235-2236.
- [10] 解春宝, 传良敏, 罗江蓉, 等. 尿微量白蛋白检测试剂盒性能评价 [J]. 临床检验, 2015, 25(11): 1770-1771.