

论著 · 临床研究

甲状腺激素检测试剂盒试剂余量对检测结果的影响*

田野¹, 李伟伟², 刘 晴¹, 郑芳芳¹, 聂秋燕¹, 王晓宁¹, 古 媛¹, 李卓敏¹, 韩 旭¹, 张 岩^{1△}, 谭延国^{1▲}
(1. 首都医科大学附属复兴医院检验科, 北京 100038; 2. 首都医科大学检验系, 北京 100069)

摘要:目的 评估甲状腺激素检测试剂盒试剂余量对检测结果的影响。方法 分别使用包括 TT3、TT4、FT3、FT4 和 TSH 试剂盒(ADVID Centaur XP) 在内的每种试剂盒的前 10 个(Top10)和最后 10 个测试(End10), 采用两套实验方案(方案 1: 连续 5 d, 每天检测 5 次; 方案 2: 连续 22 d, 每天检测 1 次), 同时检测 2 个水平的室内质控品。通过比较两套方案中根据 Top10 与 End10 两部分测定结果所计算的变异系数(CV)和两者间的偏差, 以及方案 2 中超出室内质控警戒线和控制线的概率, 来判定试剂余量对检测结果的影响。结果 (1) 于方案 1 中, 对 TT3 而言, 根据其 End10 结果计算的 CV 与 Top10 相比有增高的趋势(水平 1: 11.0% vs. 8.5%; 水平 2: 8.1% vs. 7.5%), 且 End10 与 Top10 间的偏差在几种试剂盒中最大(水平 1 为 6.5%, 水平 2 为 5.5%), 且这种偏差差异均有统计学意义($P < 0.05$)。 (2) 于方案 2 中, 虽然根据 TT3 之 End10 结果计算的 CV 与 Top10 相比未见增高趋势(水平 1: 9.8% vs. 11.0%; 水平 2: 6.7% vs. 7.2%), 但使用 Top10 和 End10 试剂测定水平 1 得到的 CV(11.0% 和 9.8%) 均超过行业标准(8.3%); End10 与 Top10 之间的偏差在所有项目中也最大(水平 1 为 9.1%, 水平 2 为 6.8%), 且差异均有统计意义($P < 0.05$)。 (3) 在方案 2 中, 虽然使用所有项目的 End10 测定两个水平的质控品, 其超过警戒线或失控的概率较之 Top10 差异无统计学意义(均 $P > 0.05$), 但 TT3 存在增高的趋势。 (4) 上述 TT3 的变化均未在 TT4、FT4、FT3 和 TSH 中观察到。结论 TT3 测定试剂盒之试剂余量较少时, 对其检测结果具有一定的影响。

关键词: 甲状腺激素; TSH 试剂盒; 总三碘甲状腺原氨酸

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.003

中图法分类号: R446.61

文章编号: 1673-4130(2018)23-2857-04

文献标识码: A

The influence of reagent allowance of thyroid hormone detection kit on test results*

TIAN Ye¹, LI Yiwei², LIU Qing¹, ZHENG Fangfang¹, NIE Qiuyan¹,
WANG Xiaoning¹, GU Yuan¹, LI Zhuomin¹, HAN Xu¹, ZHANG Yan¹, TAN Yanguo^{1▲}
(1. Department of Clinical Laboratory, Fuxing Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the effect of the reagent allowance of thyroid hormone test kit on the test results. **Methods** The initial 10 tests, and the last 10 tests of each kit, of the 5 thyroid hormone-related assays (ADVID Centaur XP), including TT3, TT4, FT3, FT4 and TSH, were used to measure 2 level of IQC products of the above 5 variables, respectively, according to 2 strategies (Strategy 1: each level of IQC was tested for 5 times, for 5 consecutive days; Strategy 2: each level of IQC was tested once per day, for 22 consecutive days). The coefficient of variance (CV) based on the initial 10 tests and the last 10 tests, and their difference, were compared, in both strategies; in the strategy 2, the probability beyond the warning line and control line was also counted and compared. The initial 10 tests (Top10) and the last 10 tests (End10) of each kit, including TT3, TT4, FT3, FT4 and TSH kit (ADVID Centaur XP), were used respectively. Two experimental schemes were adopted (scheme 1: 5 consecutive days, 5 times a day; scheme 2: 22 consecutive days, once a day). Two levels of indoor quality control products were detected simultaneously. By comparing the variation

* 基金项目: 卫生部医药卫生科技发展研究中心专项课题资助(28-5-5); 首都临床特色应用研究(吴阶平)基金项目(Z141107006614008)。

作者简介: 田野, 男, 主管技师, 硕士研究生, 主要从事自身免疫性疾病相关研究。 △ 通信作者, E-mail: E-mail: fxjyk@sina.com; ▲ 共同通信作者, E-mail: tanyanguo61@126.com。

本文引用格式: 田野, 李伟伟, 刘晴, 等. 甲状腺激素检测试剂盒试剂余量对检测结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23): 2857-2860.

coefficient (CV) calculated by Top10 and End10 and the deviation between them, and the probability of exceeding the indoor quality control warning line and control line in scheme 2, the influence of reagent residue on the test results was determined. **Results** (1) In scheme 1, for TT3, the CV calculated from its End10 results tended to increase compared with Top10 (level 1: 11% vs. 8.5%; level 2: 8.1% vs. 7.5%) and the deviation between End10 and Top10 was the largest in several kits (level 1 was 6.5%, level 2 was 5.5%) with statistical significance ($P < 0.05$). (2) In scheme 2, although the CV calculated from End10 of TT3 did not show an increasing trend compared with Top10 (level: 9.8% vs. 11%; level 2: 6.7% vs. 7.2%), the CV measured by Top10 and End10 reagents (11% vs. 9.8%) exceeded the industry standard (8.3%) and the deviation between End10 and Top10 was the largest in all projects (level: 9.8% vs. 7.2%). Level 1 was 9.1% and level 2 was 6.8%. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). (3) In scheme 2, although End10 of all items was used to measure two levels of quality control products, the increase of the probability of exceeding the warning line or losing control was not significantly compared with Top10 ($P > 0.05$), while TT3 showed an increasing trend. (4) The above TT3 changes were not observed in TT4, FT4, FT3 and TSH. **Conclusion** When TT3 assay kit has less reagent allowance, it has a certain impact on the test results.

Key words: thyroid hormone; ADVID Centaur XP; TT3

目前我国各地区患甲状腺疾病的人数已超过 2 亿人^[1-2], 而包括总三碘甲状腺原氨酸(TT3)、总甲状腺素(TT4)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)和促甲状腺激素(TSH)在内的甲状腺激素测定, 是甲状腺疾病诊断和治疗监测的重要依据。检测甲状腺激素的方法包括放射免疫法、酶联免疫法、时间分辨荧光免疫法和化学发光法等。由于化学发光法其自身的优势, 现成为主流方法。作者在使用化学发光法开展与甲状腺激素有关项目的室内质量控制活动时发现, 在每个试剂盒的试剂余量较少时, 存在失控概率增高的现象。为此, 本团队设计实验方案, 探讨了甲状腺激素相关试剂盒之试剂余量对检测结果的影响。

1 资料与方法

1.1 样本 为上海昆涑公司生产的 2 个水平的室内质控品。低值质控(水平 1)和高值质控(水平 2), 批号分别为 54020031 和 54020032。

1.2 仪器与试剂 本研究使用的检测系统, 为西门子 ADVIA Centaur® XP 全自动化学发光免疫分析仪及其配套试剂和定标液。试验过程中所使用的每种检测试剂均为同一个批号(TT3: 90649201; TT4: 35513183; FT3: 92272221; FT4: 97620087; TSH: 13924311)。定标液 CAL A 的批号为 CA95LA。

1.3 实验方法及步骤

1.3.1 质控品的准备 正式开展实验以前, 将两个水平的室内质控品各 5 盒(冻干粉), 按说明书的要求进行复溶和分装, 做好标识后, 置于 -80°C 冰箱冻存。使用时, 将质控品从冰箱内取出, 于室温准确平衡 30 min 后检测, 测定时确保该项目当日的室内质控结果在控。并按常规操作进行仪器的日常保养维护。

1.3.2 实验方案 1 (1) 每个项目的新试剂盒在刚启用时, 使用前 10 个测试, 测定低、高水平的质控品 5

次后, 再进行日常样本的检测。(2) 当剩余 10 个测试数时, 使用从冰箱重新取出分装好的低、高值质控品各 1 只, 分别再次测定 5 次。(3) 上述实验重复 5 d。(4) 分别计算当各种试剂的测试数为 Top10 和 End10 时, 所测得的高、低水平质控品结果的统计参数 $[\bar{x}$ 、 SD 、 CV 及总精密度(总 CV)]。(5) 计算 End10 和 Top10 结果的偏差: $(\text{End10} - \text{Top10}) / \text{Top10} \times 100\%$ 。

1.3.3 实验方案 2 (1) 每个项目的新试剂盒在刚启用时, 利用前 10 个测试, 测定低、高水平的质控品各一次, 然后测定常规样本。(2) 当试剂测试数余下 10 个时, 再次测定低、高水平的质控品各一次。(3) 上述实验重复 22 d。(4) 分别计算当各种试剂的测试数为 Top10 和 End10 时, 所测得的高、低水平质控品结果的统计参数 $(\bar{x}$ 、 SD 、 CV 及 CV)。(5) 计算 End10 和 Top10 结果的偏差。

1.3.4 数据分析 在步骤 1.3.3 的基础上, 以运行中的室内质控和 SD 为依据, 分析试剂测试数为 Top10 和 End10 时, 所得结果分布在 $\bar{x} \pm 2SD$ 到 $\bar{x} \pm 3SD$ 以及超过 $\bar{x} \pm 3SD$ 范围的比例。

1.4 统计学处理 数据处理使用 SPSS19.0。正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 描述。测试数为 Top10 和 End10 结果间的比较使用配对 t 检验。连续 22 d 结果在不同质控图区间分布情况的比较, 采用四格表 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验方案 1 (1) 对 TT3 而言, 基于 End10 数据计算的 CV 与 Top10 相比有增高的趋势(水平 1: 11.0% vs. 8.5%; 水平 2: 8.1% vs. 7.5%), 见表 1。(2) TT3 的 End10 与 Top10 间的偏差在所有项目中也最大(水平 1 为 6.5%, 水平 2 为 5.5%), 且差异有统计学意义($P < 0.05$)。(3) TSH 的 2 个水平质控

品、FT4 的水平 2,其 Top10 和 End10 结果间差异有异无统计学意义(均 $P>0.05$),见表 2。统计学意义(均 $P<0.05$)。其余项目各水平结果差

表 1 各种试剂不同部分 CV 及总 CV 的描述($n=25$)

项目	Top10						End10						全部数据					
	水平 1			水平 2			水平 1			水平 2			水平 1			水平 2		
	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$
TT3	1.31	0.11	8.5	2.91	0.22	7.5	1.39	0.15	11.0	3.07	0.25	8.1	1.36	0.13	9.6	3.0	0.25	8.3
TT4	6.52	0.21	3.2	14.2	0.54	3.8	6.58	0.28	4.3	14.0	0.42	3.0	6.6	0.23	3.5	14.1	0.53	3.8
FT3	3.64	0.07	2.0	8.0	0.08	1.0	3.64	0.08	2.1	7.90	0.23	2.9	7.9	0.16	2.0	3.6	0.06	1.6
FT4	1.28	0.08	5.9	2.4	0.11	4.6	1.27	0.06	4.6	2.39	0.08	3.3	1.27	0.07	5.5	2.4	0.10	4.2
TSH	1.54	0.07	4.5	8.8	0.47	5.3	1.60	0.05	3.0	9.06	0.27	3.0	1.57	0.07	4.4	8.9	0.42	4.7

表 2 各项目 2 个水平质控品的 Top10 和 End10 数据进行比较分析

方法	TT3		TT4		FT3		FT4		TSH	
	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值
水平 1	6.1	0.000	0.9	0.417	0	0.774	−0.8	0.456	0.4	0.000
水平 2	5.5	0.000	−1.4	0.275	−1.3	0.301	−1.6	0.042	0.3	0.000

表 3 各种试剂不同部分 CV 及总 CV 的描述($n=22$)

项目	Top10						End10						全部数据					
	水平 1			水平 2			水平 1			水平 2			水平 1			水平 2		
	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$	\bar{x}	SD	$CV(\%)$
TT3	1.21	0.13	11.0	2.79	0.20	7.2	1.32	0.12	9.8	2.98	0.20	6.7	1.27	0.14	11.0	2.9	0.23	7.9
TT4	6.40	0.25	3.9	14.0	0.53	3.8	6.40	0.30	4.7	13.8	0.47	3.4	6.4	0.28	4.4	13.9	0.51	3.7
FT3	3.60	0.09	2.5	8.0	0.21	2.6	3.65	0.08	2.2	7.90	0.19	2.4	3.63	0.09	2.5	7.94	0.20	2.5
FT4	1.23	0.10	8.1	2.4	0.14	5.8	1.23	0.07	5.7	2.33	0.12	5.2	1.23	0.08	6.5	2.34	0.13	5.6
TSH	1.56	0.08	5.1	8.9	0.49	5.5	1.60	0.06	3.8	9.00	0.36	4.0	1.57	0.07	4.5	8.9	0.44	4.9

表 4 各个项目 2 个水平质控品的 Top10 和 End10 数据进行比较分析

方法	TT3		TT4		FT3		FT4		TSH	
	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值	偏差(%)	P 值
水平 1	9.1	0.000	0.8	0.462	0.8	0.139	−0.1	0.899	0.3	0.008
水平 2	6.8	0.002	−1.4	0.078	−0.7	0.214	0.8	0.705	0.2	0.109

表 5 各检测项目数据分布描述($n=22$)

项目	分布范围	水平 1		P	水平 2		P
		Top10	End10		Top10	End10	
TT3	$\bar{x}\pm 2SD\sim\bar{x}\pm 3SD$	4	2	0.332	1	2	0.500
	$>\bar{x}\pm 3SD$	0	2	0.244	0	0	N/A
TT4	$\bar{x}\pm 2SD\sim\bar{x}\pm 3SD$	0	1	0.500	0	0	N/A
	$>\bar{x}\pm 3SD$	0	0	N/A	0	0	N/A
FT3	$\bar{x}\pm 2SD\sim\bar{x}\pm 3SD$	0	0	N/A	0	0	N/A
	$>\bar{x}\pm 3SD$	0	0	N/A	0	0	N/A
FT4	$\bar{x}\pm 2SD\sim\bar{x}\pm 3SD$	3	1	0.303	0	0	N/A
	$>\bar{x}\pm 3SD$	0	0	N/A	0	0	N/A
TSH	$\bar{x}\pm 2SD\sim\bar{x}\pm 3SD$	0	0	N/A	0	0	N/A
	$>\bar{x}\pm 3SD$	0	0	N/A	0	0	N/A

2.2 实验方案 2 (1) 基于 TT3 的 End10 数据计算的 CV 与 Top10 相比, 未见增高趋势(水平 1: 9.8% vs. 11.0%; 水平 2: 6.7% vs. 7.2%)。 (2) 基于 TT3 水平 1 质控品计算的 CV, 无论 Top10 还是 End10, 均超过行业要求, 且约为其它项目的 2 倍左右, 见表 3。 (3) TT3 的 End10 与 Top10 结果的偏差在所有项目中也是最大的(水平 1 为 9.1%, 水平 2 为 6.8%), 且差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。 (4) 对 TSH 之水平 1 而言, Top10 和 End10 结果间差异显著(均 $P < 0.05$); 其余项目未见类似差异(均 $P > 0.05$), 见表 4。

2.3 数据分析 以运行中室内质控的 \bar{X} 和 SD 为依据, 分析测试数为 Top10 和 End10 时, 测得的数据分布在 $\bar{x} \pm 2SD$ 到 $\bar{x} \pm 3SD$ 以及超过 $\bar{x} \pm 3SD$ 范围的比例, 结果如表 5 所示。 对所有项目而言, 其 End10 与 Top10 相比, 失控概率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), 但部分项目存在增高的趋势: TT3 之水平 2 的 End10 和 Top10 结果分布 $\bar{x} \pm 2SD \sim \bar{x} \pm 3SD$ 范围的个数为 2:1。 TT3 在水平 1 的 End10 和 Top10 结果分布 $> \bar{x} \pm 3SD$ 范围的个数分别为 2:0。 TT3 和 FT4 水平 1 End10 和 Top10 结果分布在 $\bar{x} \pm 2SD \sim \bar{x} \pm 3SD$ 范围的比例分别为 2:4 和 1:3。

3 讨 论

根据美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)的 EP25—A 指南, 影响试剂在机稳定性的因素有温度、湿度、震动、氧化、光照、开瓶时间等^[3-7]。 本研究显示, 就甲状腺激素相关的检测项目而言, TT3 在每瓶试剂剩余测试数较少时(≤ 10 时), 其 CV 值增大, 远高于试剂盒说明书所声称的 1.3%, 且接近或超过了 $CV \leq 8.3\%$ 的国家标准(2018 年卫生部临检中心关于开展全国内分泌室间质量评价的要求)。 其中, 水平 1 质控品在使用试剂头部和尾部被测定时, 所得到的 CV 均超过了国家标准。 其原因可能是质控品的浓度较低所致, 因为通常情况下, 测定低水平样本得到的 CV 要明显高于高水平样本。 另外, 使用试剂盒尾部测得的 TT3 结果与刚开瓶时的结果存在显著性差异, 以及使用尾部试剂测定室内质控品时失控概率表现出的增高趋势, 都说明当试剂瓶中试剂余量较少时, 对 TT3 的测定效果是有一定影响的。

本文显示, 试剂余量较少时, 对 5 种甲状腺激素相关试剂盒检测结果的影响是不同的。 其中对 TT3 影响最为明显, 存在导致结果偏高的风险, 而其他 4

个项目未发现类似的规律。 故除了试剂本身生产制造过程中的固有特点外(包括组方、工艺、原料、包装材料等)^[8-10], 试剂余量也可能是影响试剂盒检测质量的因素之一。 当试剂余量较少时, 试剂盒抵抗外界环境干扰(如风、蒸发、温度等)的能力也可能相应的下降。 当本研究所用试剂盒测试数为“0”时, 经测量 TT3 试剂盒的死腔量约为 600 μL , 是所有几种试剂盒死腔量最少的(TT4、FT3、FT4 约为 700 μL , TSH 约为 1 300 μL)。 而其他检测系统, 如雅培微粒子化学发光法各种类试剂盒的死腔量至少为 1 700 μL 、罗氏为 2 500 μL , 均显著高于本实验所用试剂盒。 这也提示, 本研究所用的检测系统较少的试剂死腔量可能是问题的根源。 故建议适当地提高死腔量, 以避免出现上述问题。 但试剂盒死腔量增加到多少方能避免上述问题的发生, 仍需进一步探讨。

参考文献

- [1] 刘慧玲, 张红梅. 武汉居民甲状腺疾病患病情况及危险因素调查[J]. 现代医院, 2015, 15(12): 150-153.
- [2] 李广权, 黄华兰, 贺勇, 等. 中国西部人群亚临床甲状腺功能减退症患病率及相关因素研究[J]. 实用医学杂志, 2014, 30(06): 925-927.
- [3] GB/T 29791.1-2013 体外诊断医疗器械制造商提供的信息标示第 1 部分: 术语定义和通用要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [4] 李康, 贺佳. 医学统计学[M] 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [5] 韦薇. 生物制品稳定性研究相关问题的考虑[J]. 中国新药杂志, 2013, 22(4): 390-392.
- [6] EP25 A. Evaluation of stability of in vitro diagnostic reagents[Z], 2009.
- [7] 张苏琳, 吴莉. 体外诊断试剂稳定性研究概述[J]. 中国医疗器械信息, 2017, 23(23): 24-25.
- [8] 刘冰, 黄华翠, 陈静. 二氧化碳酶法试剂开瓶稳定性与校准周期的验证[J]. 基层医学论坛, 2013, 17(13): 1715-1716.
- [9] 张力心. 浅议生化类体外诊断试剂开瓶稳定性[J]. 中国卫生标准管理, 2016, 7(01): 135-136.
- [10] 吴恩应, 杨洋, 吴灼斌, 等. 人巨细胞病毒 IgG 抗体(ELISA)检测试剂盒稳定性观察[J]. 微生物学免疫学进展, 2017, 45(01): 13-17.

(收稿日期: 2018-06-26 修回日期: 2018-09-23)