

论著 · 临床研究

乳胶增强免疫比浊 PCT 试剂在 ADVIA 2400 系统应用的性能评估及与电化学发光系统一致性研究*

刘俊龙^{1,2}, 任碧琼^{1,2△}, 徐 飞¹, 罗书笛¹, 陈 维¹

(1. 湖南中医药大学临床医学院检验教研室, 湖南长沙 410007; 2. 湖南省第二人民医院检验科, 湖南长沙 410007)

摘 要:目的 评价国产乳胶增强免疫比浊法降钙素原(PCT)诊断试剂在西门子 ADVIA 2400 系统上应用的性能。方法 参考美国临床实验室标准化委员会(CLSI)指南对乳胶增强免疫比浊法 PCT 诊断试剂在西门子 ADVIA 2400 系统检测的精密度、准确度及线性范围进行性能验证, 同时与参考方法(电化学发光法)进行一致性比较。结果 乳胶增强免疫比浊法在西门子 ADVIA 2400 系统上测定 PCT 低值和高值质控品的批内精密度分别为 5.5%、2.3%, 批间精密度分别为 6.6%、3.1%, 总精密度分别为 6.6%、3.9%。PCT 浓度在 0.19~49 ng/mL 范围的线性良好($r=0.9957$)。乳胶增强比浊法与电化学发光法的 Passing-Bablok 回归方程为 $Y=0.846X+0.0772$ ($r=0.9894$)。两种方法在 cut-off 值分别为 0.5、2.0、10.0 ng/mL 时的 Kappa 值分别为 0.742、0.893、0.921, 西格玛(σ)值为 3.5, 两方法在低、高 PCT 浓度处的质量目标指数(QGI)分别为 0.68、2.41。结论 国产乳胶增强免疫比浊 PCT 试剂在 ADVIA-2400 系统上应用符合性能验证标准, 但采用六西格玛标准, 该方法在精密度和准确度方面尚需进一步改进。

关键词:降钙素原; 乳胶增强免疫比浊; 电化学发光; 性能评估; 六西格玛; 质量目标指数

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.24.020 中图法分类号:R-331

文章编号:1673-4130(2018)24-3071-04 文献标识码:A

Analytical evaluation of latex-enhanced immunoturbidimetric PCT reagent on ADVIA 2400 system and the consistency of ADVIA 2400 system and electrochemistry luminescent system*

LIU Junlong^{1,2}, REN Biqiong^{1,2△}, XU Fei¹, LUO Shudi¹, CHEN Wei¹

(1. Department of Medical Laboratory, School of Clinical Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410007, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of domestic latex-enhanced immunoturbidimetric procalcitonin (PCT) diagnostic reagent on ADVIA 2400 system. **Methods** The precision, accuracy and linear range of latex-enhanced immunoturbidimetric PCT diagnostic reagent was tested by ADVIA 2400 system in reference to CLSI guide. At the same time, the consistency of this method was compared with the reference method, which was electrochemistry luminescent method. **Results** On Siemens ADVIA 2400 system, through latex-enhanced immunoturbidimetric method, the tested intra-assay precisions of PCT were 5.5% in low quality control and 2.3% in high quality control, respectively. The inter-assay precisions were 6.6% in low quality control and 3.1% in high quality control. The gross precisions were 6.6% in low quality control and 3.9% in high quality control. The linearity in the concentration range of 0.19—49 ng/mL was good ($r=0.9957$). The Passing-Bablok regression equation between latex-enhanced turbidimetry method and electrochemistry luminescent method was $Y=0.846X+0.0772$ ($r=0.9894$). The Kappa values were 0.742, 0.893, 0.921 respectively, while the cut-off values of the PCT concentrations were 0.5, 2.0, 10.0 ng/mL, respectively. The sigma value (σ) was 3.5. The quality target indices (QGI) of two PCT concentrations were 0.68 and 2.41 respectively. **Conclusion** The domestic latex-enhanced immunoturbidimetric PCT reagent meets the performance verification standard on the ADVIA-2400 system, however, this method needs further improvement in precision and accuracy by the six sigma standard.

Key words: procalcitonin; latex enhanced immunoturbidimetry assay; analytical evaluation; six sigma; quality goal index

* 基金项目: 国家科技支撑项目(2015BAI32H00)。

作者简介: 刘俊龙, 男, 在读硕士, 主要从事临床检验诊断研究。 △ 通信作者, E-mail: 13808481211@163.com。

本文引用格式: 刘俊龙, 任碧琼, 徐飞, 等. 乳胶增强免疫比浊 PCT 试剂在 ADVIA 2400 系统应用的性能评估及与电化学发光系统一致性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(24): 3071-3074.

降钙素原(PCT)是降钙素的前体,长度为 116 个氨基酸。在生理条件下,PCT 由甲状腺的 C 细胞合成和分泌,但其在血液中的水平很低,一般方法几乎检测不到($<0.1\text{ ng/mL}$)^[1]。但当机体受到各种应激原刺激时甲状腺外组织、细胞产生 PCT,使得血液中 PCT 水平增加^[2-3]。因此,PCT 被认为是诊断和监测脓毒血症和其他严重细菌感染的金标准^[4]。根据德国重症医学会脓毒症诊断指南:PCT $<0.5\text{ ng/mL}$ 表明脓毒症可能性极低; $0.5\sim2.0\text{ ng/mL}$ 可能存在全身性炎症反应及细菌感染; $>2.0\text{ ng/mL}$ 可能是脓毒血症;而 $>10.0\text{ ng/mL}$ 表明严重的脓毒血症或败血症性休克^[5]。最早将 PCT 用于临床的是德国 BRAHMS 公司,采用的是半自动定量法。近年来,市场上 PCT 试剂品牌逐渐增多。目前,临床实验室中使用最广泛的方法有化学发光法(CLEIA)、电化学发光法(ECLIA)、免疫比浊免疫及酶联荧光(ELFA)^[6]。北京九强生物科技有限公司推出的乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂适用于包括 ADVIA 2400 在内的各种开放式全自动生化检测系统,为了验证乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂在 ADVIA 2400 全自动检测系统应用的性能,本实验室参照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)相关文件要求评估了该方法的检测性能,同时对 2 个不同的 PCT 检测系统的相关性及一致性进行比较和分析,为在 ADVIA 2400 全自动检测系统上进行 PCT 检测提供质量保障。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集湖南省第二人民医院 2018 年 4—7 月门诊及住院患者血清标本 132 例,其中男 80 例,女 52 例,平均年龄(59.2 ± 20.3)岁,包含一定数量健康人群,轻、中、重度炎症反应综合征患者,以及感染患者。剔除脂血、溶血及黄疸标本。

1.2 仪器与试剂 ADVIA 2400 全自动生化分析仪购自美国西门子公司,北京九强生物科技有限公司提供 PCT 试剂、校准品及配套质控品,试剂、标准品批号为 180117,质控品批号为 180511。罗氏公司提供全自动电化学发光免疫分析仪 Roche cobas e411 及 Elecsys BRAHMS PCT 试剂、校准品及配套质控品,批号为 26233690;质控品包括高、低值 2 个水平,按照 Westgard 规则,2 个水平质控合格方可进行检测,按照仪器、试剂说明书和标准操作规程进行操作。

1.3 方法

1.3.1 精密度评价 参考 CLSI 指南文件 EP5A2 要求^[7],批内精密度、批间精密度确认:将已准备好的足量的高、低值质控品分别分装成 20 份, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存;每天各取 1 份,室温复融并平衡 30 min,然后混匀,上机检测,结果存档,待 20 d 检测完,分别计算其 $\bar{x}$ 、SD 和 CV。由于目前在 PCT 未规定统一的生物学变异和质量标准,故参考厂家给定的验证标准,设定 PCT 的可接受 CV 为 $<\pm 10\%$ 。

1.3.2 准确度评价 参考 CLSI 指南文件 EP9A2 要求^[8],每个标本进行双份重复测定;以参比方法 Cobas

E411 检测结果为 Y,比较方法 ADVIA-2400 检测结果为 X,进行相关性分析。将医学决定水平(X_c)代入线性回归方程,求得 Y_c ,并计算两系统间的系统误差(SE)和相对偏差(SE_r), $SE=|Y_c-X_c|$, $SE_r=SE/X_c\times 100\%$ ^[8],判断临床可接受性能。因 PCT 的允许误差范围暂无规定,故根据厂家建议,将 $SE_r\leq 15\%$ 暂定为判断标准。如医学决定水平值的 SE_r 未超出此标准,则判断相对偏差可为临床接受。

1.3.3 线性范围验证 从常规住院患者中获得高浓度 PCT 值(49 ng/mL)和低浓度 PCT(0.19 ng/mL)的样本以固定比例(1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1),以覆盖临床患者的浓度范围^[8]。在 1 个批次测量中完成实验,每一浓度至少重复测量 2 次。统计并计算得到理论浓度为 X,实际测得浓度为 Y,作散点图,进行回归分析,计算相关系数 r 。

1.3.4 一致性评价方法 (1)依据脓毒血症指南的分类标准,将两组检测结果分组进行 Kappa 一致性分析。(2)选取 2 组检测结果都在线性范围的标本,以 2 种方法测量的 PCT 的均值为 X,2 种方法测量的 PCT 的差值为 Y,绘制 Bland-Altman 图,验证两者的一致性。(3)六西格玛质量标准:西格玛值(σ)= $|TEa-Bias|/CV$ ^[9],总允许误差($TEa\%$)按中国卫生健康委员会临床检验中心室间质评要求取 30%; $Bias\%$ 为根据 EP9A2 文件准确度验证 2 个浓度水平偏倚的结果; $CV\%$ 为按照 EP5A2 文件计算的 2 个浓度水平合成变异系数值。(4)质量目标指数(QGI)采用公式计算得到, $QGI=Bias/(1.5\times CV)$,当检验性能未达到 6σ 时,采用该方法评价; $QGI<0.8$,提示所检测项目方法性能上需优先改进的是精密度; $QGI>1.2$,提示方法准确度较差,需优先改进准确度; QGI 在 $0.8\sim1.2$ 提示准确度和精密度均需改进^[10-11]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 及 MedCalc18.6 统计学软件进行数据处理、图表绘制及统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示;两检测系统检测结果的相关性采用 Pearson 相关分析;采用 Passing-Bablok 回归进行线性回归分析,两检测系统检测结果的一致性分析采用 Kappa 检验,Kappa 介于 $0.4\sim0.75$ 之间表示一致性一般; $Kappa\geq 0.75$ 表示一致性良好。

2 结果

2.1 精密度评价 乳胶增强免疫比浊法检测 PCT 批内低值、高值精密度分别为 5.5%、2.3%,批间低值、高值精密度分别为 6.6%、3.1%,高值、低值总精密度分别为 6.6%、3.9%,见表 1。

表 1 乳胶增强免疫比浊法检测 PCT 精密度结果

项目	批内精密度		批间精密度		总精密度
	PCT(ng/mL)	CV(%)	PCT(ng/mL)	CV(%)	CV(%)
低值	0.90±0.05	5.5	0.90±0.019	6.6	6.6
高值	6.04±0.14	2.3	6.04±0.14	3.1	3.9

2.2 准确度评价 Cobas E411 电化学发光法(参考

方法)与 ADVIA 2400 乳胶增强免疫比浊法(对比方法)比较,在 0.3~60.0 ng/mL 的浓度范围内相关性良好($r=0.989\ 4$, $P<0.001$)。得到的 Passing-Bablok 回归方程^[12]: $Y=0.846X+0.077\ 2$ (图 1)采用该回归方程进行偏倚估计,计算系统间相对偏倚,进行临床可接受性能评价。将质控浓度均值 X_1 、 X_2 、 X_3 分别带入线性方程中,计算得 SEr 分别为 2.0%、12.0%、14.7%,见表 2。

表 2 不同 X_c 处 PCT 偏倚及可接受性能评价

X_c (ng/mL)	Y (ng/mL)	SE (ng/mL)	SEr (%)
0.5	0.51	0.01	2.0
2.0	1.76	0.24	12.0
10.0	8.53	1.47	14.7

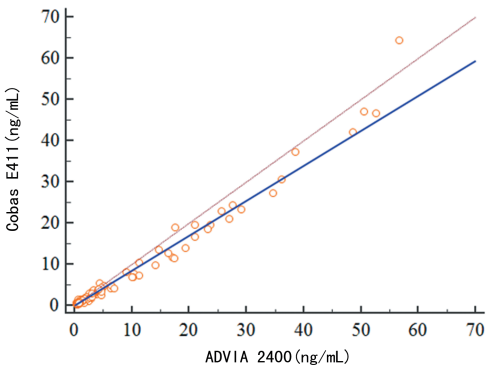


图 1 ADVIA 2400 和 Cobas E411 检测结果的 Passing-Bablok 回归分析

2.3 线性验证 乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂使用 ADVIA 2400 测量,通过绘制测量浓度和理论浓度散点图($r=0.995\ 7$, $P<0.001$)获得的线性回归分析反映了 PCT 值在 0.19~49.00 ng/mL 范围内的测试线性良好,见图 2。

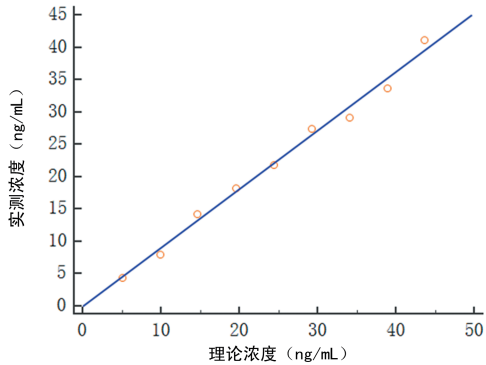


图 2 乳胶增强免疫比浊法检测 PCT 线性图

2.4 两检测系统 PCT 测定结果一致性评价

2.4.1 西格玛值(σ) 在低浓度 PCT(PCT1)时, σ 取值为 3.5;在高浓度 PCT(PCT2)时, σ 取值为 4.0,因此 $\sigma_{pct2}-\sigma_{pct1}=0.5<1.5$,取最小 σ 值,即 3.5。当 $3<\sigma<4$ 时,表明该检测系统达到最低质量标准,能够用于临床检测,见表 3。

2.4.2 质量目标指数(QGI) 在低浓度 PCT(PCT1)时,QGI 为 0.68;在高浓度 PCT(PCT2)时,QGI 为 2.41,此时表明该检测系统性能不佳,主要表

现在精密度与准确度,见表 3。

2.4.3 Kappa 检验 以 0.5、2.0、10.0 ng/mL 作为 cut-off 值,得 Kappa 值分别为 0.742($P<0.001$)、0.893($P<0.001$)、0.921($P<0.001$)。两检测系统血清 PCT 测定结果在 cut-off 值为 0.5 ng/mL 时一致性一般,在 cut-off 值为 2.0、10.0 ng/mL 时一致性良好。

表 3 两个浓度水平的西格玛值及目标指数结果

项目	CV (%)	TEa (%)	$Bias$ (%)	σ	QGI
PCT1	6.6	30	6.82	3.5	0.68
PCT2	3.9	30	14.12	4.0	2.41

2.4.4 Bland-Altman 分析 两检测系统检测 PCT 的 Bland-Altman 图显示,对比方法与参考方法测定 PCT 的偏倚为 0.9,接近差值均数 0,两检测系统的一致性限度为(-3.0,4.8),说明两检测系统测量 PCT 的结果一致性程度较高,见图 3。

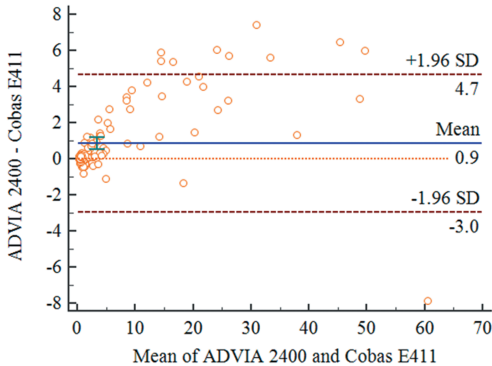


图 3 ADVIA 2400 和 Cobas E411 测量 PCT 的 Bland-Altman 图

3 讨 论

PCT 作为一种新型的炎症生物学标记物,具有疾病特异性、指针时效性、代谢稳定性等特点^[13]。同时与经典的炎症标志物白细胞计数(WBC)、白细胞介素 6(IL-6)、C 反应蛋白(CRP)等相比,PCT 在区分细菌感染和非细菌性感染方面有很大的优势^[13]。PCT 作为生物标志物已然成为临床鉴别、控制细菌感染的一项重要辅助诊断指标。PCT 浓度可以帮助医生决定疑似感染进行判定,从而能够更准确地诊断从而帮助临床优化治疗方案,同时 PCT 指标也被越来越多地用于指导抗生素管理和临床合理用药。

随着 PCT 在临床上的应用越来越广泛,简单、快速、高度准确的 PCT 测量方法对于有效的患者管理几乎是必不可少的。从目前大部分检测方法来看,胶体金法只能定性或半定量检测 PCT 水平,而且灵敏度、重复性不佳。放射免疫分析具有灵敏度高、特异性强、准确度高等特点,可用于抗原半抗原抗体检测,但在检测过程中容易产生放射性污染,影响测试结果的准确性。化学发光法具有信噪比高、灵敏度高及线性范围宽等优势,但是试剂和仪器成本也相对较高。而乳胶增强免疫比浊法是基于免疫沉淀反应原理建立的,它不同于传统的比浊法,其克服了抗原-抗体复合物短时间难以形成浊度的特点,提高了灵敏度,缩短了反应时间,而且样本用量少,试剂成本低,这是自动化生化

实验室开展 PCT 项目的一个不错的选择^[14]。

本实验室对国产乳胶增强免疫比浊 PCT 试剂在全自动生化仪 ADVIA 2400 上的使用进行了性能评价。性能验证基于 CLSI 指南文件进行,该方法的批内精密度和批间精密度介于 2.3%~6.6%,虽然较参考方法 Elecsys BRAHMS PCT 的精密度(0.9%~4.0%)稍有不足,但还是能满足临床疾病诊断的需求。同时,本实验室验证了血清 PCT 浓度的相关临床线性范围,在 0.194~49.000 ng/mL 范围内 PCT 表现良好的线性($r=0.9957$),而厂家给定的线性为 0.3~60.0 ng/mL。因此,可以将线性范围低值定到 0.3 ng/mL 以下,这样可以增强其诊断和监测轻微或局部感染的临床实用性。在准确度方面,乳胶增强免疫比浊方法在 0.3~60 ng/mL 的浓度范围内相关性良好($r=0.9894$, $P<0.001$),由于参考方法并不是公认的参考方法,一般线性回归只考虑验证方法的所产生的误差,故不能进行全面偏差估计,所以采用 Passing-Bablok 回归分析绘制散点图得出回归方程进行偏差估计,因 PCT 的允许误差范围暂无规定,根据制造商的推荐,初步将 $SEr\leq 15\%$ 作为判断标准。医学决定水平处的 PCT 浓度,得出的偏倚均小于 15%,说明偏倚在临床可接受范围内,乳胶增强免疫比浊法的准确度符合暂定标准。此外本实验室对两检测系统进行了一致性分析,分别以 0.5、2.0、10.0 ng/mL 作为 cut-off 值,对两组检测结果均在线性范围内的样本进行分组得到的 Kappa 值分别为 0.742($P<0.001$)、0.893($P<0.001$)、0.921($P<0.001$),两检测系统血清 PCT 测定结果在 cut-off 值为 0.5 ng/mL 时一致性一般,在 cut-off 值为 2.0、10.0 ng/mL 时一致性良好。Cut-off 值为 0.5 ng/mL 时一致性一般,可能原因是参考方法的线性范围为 0.05~100.00 ng/mL,而对比方法的线性范围为 0.3~100.00 ng/mL,二者最低定量限不同,导致当样本中 PCT 浓度特别低的时候,检测的数值产生差异。同时经过 Bland-Altman 分析测定 PCT 的偏倚为 0.9,接近 0,表现出良好的一致性,但是存在一定系统误差及比例误差。

以传统的性能评价方法来评价乳胶增强免疫比浊法,它符合实验室一般性能要求,但是并不能从定量上评价该项目优劣,因此本实验室引入了六西格玛标准,它能有效地评价临床生化项目的各项性能指标,设计个性化的质量控制方案,能更精准地控制实验室检测的质量^[15]。结合前述的 EP05-A2 及 EP09-A2 文件,对 σ 值进行计算。当 σ 为 6 时,说明该方法性能方面最优,可以完全替换参考方法。而该方法 σ 为 3.5,仅仅达到最低质量水平。当 $\sigma<6$ 时,通过计算 QGI 评估发现该方法在精密度和准确度上存在不足,因此提示需要在这方面进行改进。

4 结 论

国产乳胶增强免疫比浊 PCT 试剂的性能满足临床需要,同时具有简单、快速、成本低等特点,但是使

用六西格玛标准分析,该方法性能仅达到 3σ 水平,虽然可以作为临床检测 PCT 的备选方法,但是 3σ 只是最低要求,其精密度和准确度方面均有待提高,另外,血清 PCT 检测的参考方法也有待确定。

参考文献

- [1] MEISNER M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin[J]. Clin Chim Acta, 2003, 323(1): 17-29.
- [2] REN B, ZOU G, HUANG Y, et al. Serum levels of HSP70 and other DAMP proteins can aid in patient diagnosis after traumatic injury[J]. Cell Stress Chaperones, 2016, 21(4): 677-686.
- [3] DI SOMMA S, MAGRINI L, TRAVAGLINO F, et al. Opinion paper on innovative approach of biomarkers for infectious diseases and sepsis management in the emergency department[J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(6): 1167-1175.
- [4] SCHUETZ P, ALBRICH W, MUELLER B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future[J]. BMC Med, 2011, 9: 107.
- [5] DELLINGER R P, LEVY M M, CARLET J M, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008[J]. Crit Care Med, 2008, 36(1): 296-327.
- [6] DIPALO M, GUIDO L, MICCA G. Multicenter comparison of automated procalcitonin immunoassays[J]. Pract Lab Med, 2015, 2: 22-28.
- [7] CLSI. Evaluation of Precision Performance of quantitative measurement methods; Approved guideline second edition: EP5-A2[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [8] CLSI. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline: EP9-A2[S]. Wayne, PA: CLSI, 2002.
- [9] IQBAL S, MUSTANSAR T. Application of sigma metrics analysis for the assessment and modification of quality control program in the clinical chemistry laboratory of a tertiary care hospital[J]. Indian J Clin Biochem, 2017, 32(1): 106-109.
- [10] NANDA S K, RAY L. Quantitative application of sigma metrics in medical biochemistry[J]. J Clin Diagn Res, 2013, 7(12): 2689-2691.
- [11] Kumar B V, Mohan T. Sigma metrics as a tool for evaluating the performance of internal quality control in a clinical chemistry laboratory[J]. J Lab Physician, 2018, 10(2): 194-199.
- [12] BILICZULLE L. Comparison of methods: Passing and Bablok regression[J]. Biochem Med, 2011, 21(1): 49-52.
- [13] 李鲁平, 于洋, 谷海峰, et al. 降钙素原上转发光免疫层析定量检测方法的建立[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(2): 144-146.
- [14] 杨文杰, 柯振符, 黎舒, 等. 胶乳增强免疫比浊法检测降钙素原的方法评价[J]. 广东医科大学学报, 2015, 33(1): 88-91.
- [15] 张辉, 赵献云. 六西格玛质量标准在临床生化检验中的应用[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2016, 25(3): 210-212.