

自建胱抑素 C 检测系统分析性能的评价

王志勇, 顾桂兰, 李友建, 姚扬美, 金灿灿(扬州大学附属泰兴医院检验科, 江苏泰兴 225400)

【摘要】 目的 通过应用 CLSI EP 系列方案分别对一种国产颗粒增强免疫比浊法胱抑素 C 试剂结合日立 7600-020 全自动生化分析仪建立的检测系统的分析性能进行评价, 了解该检测系统分析性能能否满足临床需要。**方法** 采用 EP-5A2、EP-6A 对自建检测系统精密度、最低检测限、线性、试剂稳定性等技术指标进行测定。采用 EP-9A2 与进口检测系统进行方法比对试验。**结果** 自建检测系统批内、批间、天间及总不精密度均低于 8%; 最低检测限为 0.11 mg/L; 4 ℃ 试剂稳定性大于或等于 30 d; 标本胱抑素 C 水平为 0.5~8.0 mg/L 时, 线性良好, 偏倚较小; 方法比对试验结果 $Y=0.829 1X+0.007 5$, $r^2=0.993 8$ 。**结论** 国产胱抑素 C 试剂结合日立 7600-020 生化分析仪检测性能可以满足临床实验室的需要, 与进口检测系统比对结果差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

【关键词】 胱抑素 C; 颗粒增强免疫比浊法; 分析性能评价

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.01.021 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)01-0047-02

Performance evaluation of a self-built cystatin C detection system WANG Zhi-yong, GU Gui-lan, LI You-jian, YAO Yang-mei, JIN Can-can (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Taixing Hospital, Yangzhou University, Taixing, Jiangsu 225400, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the performance of a detection system established by a domestic particle re-inforced immune turbidimetry cystatin C reagent combined with the Hitachi 7600-020 fully automatic biochemical analyzer through using CLSI EP scheme to understand whether the performance of this detection system can meet the clinical needs. **Methods** EP-5A2 and EP-6A were adopted to measure the precision, minimal detection limit, linearity, reagent stability and other technical indicators of the self-built detection system. EP-9A2 was adopted to conduct the methodological comparative test. **Results** The intra-batch, inter-batch, inter-day and total imprecision of the self-built detection system all were $< 8\%$; the minimal detection limit was 0.11 mg/L; 4 ℃ reagent stability was ≥ 30 d, when the cystatin C content of the sample was in the range of 0.5—8.0 mg/L, the linearity was good with small bias; the methodological comparison results was $Y=0.829 1X+0.007 5$, $r^2=0.993 8$. **Conclusion** The domestic Cystatin C reagent combined with the detection performance of the Hitachi 7600-020 biochemical analyzer can meet the needs of clinical laboratory, the results difference of its comparison with the import detection system has no statistical significance ($P>0.05$).

【Key words】 cystatin C; particles enhance immune turbidimetric method; analytic performance evaluation

胱抑素 C 存在于人体大多数体液中。由于它相对分子质量低 (13.3×10^3) 和在生理 pH 值中带正电的特性, 可以自由地从肾小球完全滤过, 在近端肾小管几乎完全再吸收及分解, 其浓度亦不受感染、肝脏疾病或免疫因素等影响, 血液中胱抑素 C 浓度完全取决于肾小球滤过能力^[1]。因此, 许多研究认为其可作为新的肾小球滤过率 (GFR) 评估指标^[2-3]。本研究参考美国临床和实验室标准委员会 (CLSI) 的 EP-5A2 (临床化学设备精密度性能的评价)^[4], EP-6A (定量分析方法线性的评价)^[5], EP-9A2 (用患者标本的方法比较和偏差的估计)^[6] 评价方案对国产试剂结合日立 7600 全自动生化分析仪建立的检测系统的分析性能进行了评价, 并将其与进口检测系统进行对比, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 日立 7600-020 全自动生化分析仪购自日本日立公司; 宁波美康胱抑素 C 检测试剂盒 (批号: 20130312) 及配套校准品 (批号: 20130312) 购自宁波美康公司; 西门子 BN PROSPEC 全自动特定蛋白仪, 西门子胱抑素 C 检测试剂盒 (批

号: 167845) 及配套校准品 (批号: 049858) 均购自西门子公司。

1.2 方法 参照美国临床与实验室标准委员会系列评估方案 EP-10A、EP-5A2、EP-6A, 对试剂的不精密度、线性、检测限进行评估, 参照 EP-9A2 方案与西门子检测系统进行比对。

1.2.1 不精密度 参考 EP-5A2 文件, 采用国产试剂对低、中、高 3 份混合血浆, 连续测定 10 d, 每天测定两批, 批间间隔的时间不少于 2 h, 每批对样品做双份测定, 取均值, 计算批内、批间、天间及总不精密度。

1.2.2 线性分析 取异常高值混合血浆 1 份, 正常值混合血浆 1 份, 分别按 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2 和 9:1 混合, 加上未混合的两份标本, 共计 11 份, 随机排列, 各检测两次。

1.2.3 最低检测限 连续 10 d 测定空白标本, 每天测定 2 次, 测定结果的均值加 3 倍标准差即为最低检测限。

1.2.4 稳定性试验 将试剂开瓶后放入 4 ℃ 冰箱, 每日取出进行标本检测, 观察其试剂稳定性。

1.2.5 方法学比对 采用 EP-9A2 文件, 西门子检测系统和

美康试剂-日立 7600 检测系统分别作为比较方法和试验方法,测定 40 例高、中、低值临床标本。每天测定 8 个标本,连续 5 d。每个标本重复测定 2 次,前后两次按照相反的顺序测定。每个标本在 2 h 内完成试验方法和比较方法的测定。

1.3 数据处理与统计学分析 数据处理采用 Microsoft Excel2003 及 SPSS12.0 统计分析软件包处理。

1.3.1 不精密度 分别计算高、中、低浓度样品测定结果的均值、标准差与变异系数(CV)及批内、批间、天间及总不精密度,测量结果应符合 CLIA'88 的规定。

1.3.2 线性 以理论浓度为纵坐标,以测量均值为横坐标,计算两组数据之间的相关性和线性方程的斜率和截距,相关系数应 $r \geq 0.99$,得到的线性回归 $Y = aX + b$ 中,若 a 接近于 1, b 接近于 0,说明试剂的线性范围较好,能满足临床要求,在线性范围内测定值和预期值相关性良好。

1.3.3 方法学比对 以待检测系统测量数据(x_i)为自变量,比较检测系统测量数据(y_i)为因变量求出线性回归方程,计算线性相关系数(r):

$$r = \frac{\sigma_{xy}^2}{\sigma_x \cdot \sigma_y} = \frac{\frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{n}}{\sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n}} \times \sqrt{\frac{\sum(y-\bar{y})^2}{n}}} = \frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sqrt{\sum(x-\bar{x})^2} \cdot \sqrt{\sum(y-\bar{y})^2}}$$

如果 $r \geq 0.975$ (或 $r^2 \geq 0.95$),则认为 X 范围适合,数据满足要求。在医学决定水平,利用回归方程计算预计偏差,预期偏差 $Bx = a + (b-1)X$,相对偏差 = Bx/X ,判断相对偏差是否在规定范围内。

1.3.4 统计学处理 所有数据处理采用 SPSS12.0 统计分析软件包处理。两组数据之间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不精密度 结果见表 1。美康-日立 7600 检测系统的批内、批间、天间及总不精密度均小于 8%。

表 1 美康-日立 7600 检测系统不精密度

标本均值	SD				总 CV (%)
	批内	批间	天间	总	
4.86	0.08	0.15	0.19	0.24	4.94
2.66	0.04	0.10	0.10	0.10	3.76
0.56	0.03	0.03	0.03	0.04	7.14

2.2 线性分析 线性分析结果见图 1,美康-日立 7600 检测系统在胱抑素 C 浓度为 0.5~8.0 mg/L 时,检测结果具有较好的线性关系。

2.3 最低检测限 最低检测限试验结果 0.02 mg/L,SD 0.03 mg/L,故其最低检测限为 0.11 mg/L。

2.4 稳定性试验 将试剂开瓶后放置于 4℃ 冰箱中每日取出检测储存的混合血浆 1 次,连做 30 d,结果表明 30 d 内,试剂稳定性没有发生明显改变。

2.5 比对试验 比对试验结果见图 2,美康-日立检测系统结果与西门子 BN PRO SPEC 系统检测结果表明美康-日立检测系统与进口检测系统相关性较好,但美康-日立检测系统检测结果则比西门子检测系统检测结果偏高,比临界值 1.10 mg/L

处约高 0.18 mg/L,差异无统计学意义($P > 0.05$)。相关方程为 $Y = 0.829 1X + 0.007 5$,回归系数 r 为 0.9969, $r^2 = 0.993 8$ 。

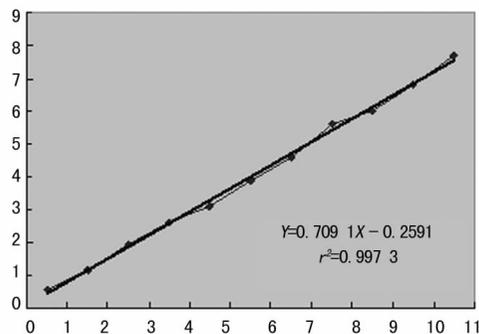
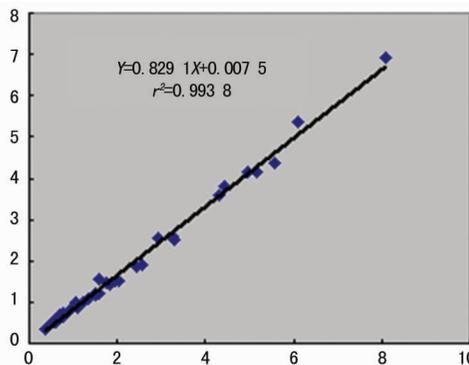


图 1 美康-日立 7600 检测系统线性分析结果



注: X 轴为美康-日立系统检测结果; Y 轴为西门子系统检测结果; 单位 mg/L。

图 2 美康-日立检测系统结果与西门子检测系统结果间比对

3 讨 论

血清胱抑素 C 检测具有重要的临床意义,越来越多的循证医学证据证明,其在肾脏疾病的早期诊断、治疗、预后判断等诸多方面有较为广泛的应用^[7-8]。目前,胱抑素 C 检测进口试剂价格昂贵,限制了其在临床的广泛应用,故胱抑素 C 检测试剂的国产化显得尤为必要,从而降低其检测成本,适用于临床推广使用^[9]。

胱抑素 C 检测方法主要为颗粒增强免疫比浊法^[10],包括免疫透射比浊法(PETIA)和免疫散射比浊法(PENIA),PENIA 需要特殊的仪器设备,而 PETIA 则可以直接在自动生化分析仪上进行。然而,胶乳增强透射比浊法有一定的缺陷:在自然条件下聚丙烯胶乳颗粒能够自身凝集,而且胶乳球直径越大,趋势越明显。由此带来的共性问题为精密度相对较差,日间稳定性不好,此外各种方法间的检测偏差缺乏试验证据^[11]。对自建系统应进行详细论证与评估,以保障临床检验结果的准确性及各实验室结果间的可比性^[12]。因此,本研究对国产胱抑素 C 检测试剂盒结合日立 7600 生化分析仪建立的检测系统进行了标准化的检验性能评估。评估结果表明,以该国产胱抑素 C 检测试剂盒建立的自建检测系统、精密度、检测限、线性和准确度均与其说明书标明的各指标数据相符。比对结果表明,与进口检测系统相关性较好,但检测结果则比西门子检测系统检测结果偏高,比临界值 1.10 mg/L 处约高 0.18 mg/L,尽管这种差异无统计学意义($P > 0.05$),但这提示在临床应用该试剂盒结果例如估算 GFR 时应注意这种差异,是否可以利用二者的相关方程进行结果间的换算,(下转第 51 页)

量的水稀释混匀,再测定其吸光度。测定线性范围较宽,一般不需对高浓度标本进行稀释。还有将终点法改良为两点法的报道^[9]。

本组研究设置模式 2,以实现延长反应时间,使反应达到终点的目的,同时对线性高值和吸光度 A 值最高限额进行了有效限制。对正常标本和稍高值的标本效果很好,但在对特高值样品测定时,发现反应曲线呈抛物线状降低,表现出底物耗尽的现象,并引入较大的误差,应引起同行的重视。在本研究设置的模式 4 中单独对线性高值进行了有效限制,使超出线性范围的标本均起到了报警和自动减量重做的作用,结果的准确性得到了保证。在设置的模式 5 中单独对吸光度 A 值最高限额进行了有效限制,同样对超限标本均起到了报警和自动减量重做,进一步验证了在日常工作中采用的模式 1 的科学性和正确性。模式 1 也是目前作者认为在实际应用中最为理想的分析模式,它充分利用了有效的线性限制和吸光度 A 值最高限额,对不同浓度的标本均能实现准确测定。对于模式 3 设置的线性限制和吸光度 A 值最高限额,均未起到任何限制作用,从本次葡萄糖氧化酶法结果分析,反映出试剂厂家提供的线性范围为 27.8 mmol/L,而实际在 24.5 mmol/L 左右已达到线性极限,同时试剂厂家提供的吸光度 A 值最高检测限额 ABS=2 500 mAbs,在 CL-8000 上仅测到 1 300~1 400 mAbs,导致模式 3 所设置的限制参数起不到任何作用,给高值样品的检测带来很大的偏差^[10]。这种模式个别工程师经常用,应引起注意。

因此要求广大的临床检验人员,在实际工作中不要一味依赖厂家提供的各种参数,要正确分析,合理利用厂家提供的限制参数和试剂比例^[11],注意一些干扰因素^[12],确保对各种标本分析结果的准确性。

(上接第 48 页)

则需大标本量研究。总体而言,该试剂盒结合日立 7600 生化分析仪建立的检测系统检验性能良好,可以满足临床需要。

参考文献

- [1] 农世泽,班副植. 胱抑素 C 在临床各种肾病中的应用价值[J]. 检验医学与临床,2013,10(7):858-859.
- [2] Zaffanello M, Brugnara M, Franchini M, et al. Is serum procalcitonin able to predict long-term kidney morbidity from urinary tract infections in children[J]. Clin Chem Lab Med, 2008,46(10):1358-1363.
- [3] 李平,蔡伟娟,张丽翠. 胱抑素 C 尿素和肌酐在不同程度肾病中的临床价值[J]. 检验医学与临床,2012,9(18):2292-2293.
- [4] CLSI. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second. CLSI document EP5-A2[S]. Wayne, Pennsylvania, USA: CLSI, 2002.
- [5] CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A[S]. Wayne, Pennsylvania, USA: CLSI, 2003.
- [6] CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. CLSI document EP9-

参考文献

- [1] 费维伦,梁春阳. 3 种血清葡萄糖测定方法的比较[J]. 检验医学与临床,2012,9(20):2573-2574.
- [2] 朱海燕,苏猛. 对干化学方法快速测定血糖结果的评价[J]. 中外医学研究,2013,11(6):66.
- [3] 谢服役,孙琦,吴巧萍. 参考方法测定血清葡萄糖的测量不确定度评价[J]. 浙江医学,2013,35(3):188-191.
- [4] 耿素珍. 生化自动分析仪反应监测与葡萄糖测定质量控制[J]. 河北北方学院学报:医学版,2009,26(1):53-56.
- [5] 李海宁,母瑞红,任海萍,等. 体外诊断试剂监管现状分析及思考[J]. 中国医疗器械杂志,2011,35(1):68-70.
- [6] 焦连亭. 我国生化分析仪临床应用中应注意的若干问题[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(5):472-474.
- [7] 王翠玉,段樱. 终点法反应平衡时间的试验观察[J]. 陕西医学检验,2002,17(1):33-34.
- [8] 黄健,张刘冬. 改良终点法在临床生化检验中的应用探讨[J]. 海南医学,2010,21(22):46-47.
- [9] 赵燕霞,孙光伟. 两点法在血糖测定中的应用[J]. 实用医技杂志,2007,14(18):2411-2412.
- [10] 王宝占,李立和. 葡萄糖测定参数设置与质量保证[J]. 现代检验医学杂志,2009,24(6):81-82.
- [11] 韩鹏飞,蔡娟. 血清葡萄糖测定在不同试剂/样本比例下的线性实验[J]. 检验医学,2010,25(4):314-316.
- [12] 张亚男. 血清葡萄糖测定临床意义[J]. 中国现代药物应用,2012,6(9):43-44.

(收稿日期:2013-06-18 修回日期:2013-09-22)

A2[S]. Wayne, Pennsylvania, USA: CLSI, 2002.

- [7] Spanaus KS, Kollerits B, Ritz E, et al. Serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein in diagnostic staging and predicting progression of primary nondiabetic chronic kidney disease[J]. Clin Chem, 2010,56(5):740-749.
- [8] 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.
- [9] 张勇建,朱瑞宗,杨占良,等. 国内厂家胱抑素 C 试剂的评价方法研究和结果分析[J]. 检验医学与临床,2012,9(11):1293-1294.
- [10] 朱应红,陈敏,欧阳家乐. 乳胶增强比浊法胱抑素 C 测定试剂的临床应用评价[J]. 检验医学与临床,2012,9(21):2753-2754.
- [11] 李海霞,王学晶,徐国宾,等. 两种不同检测系统测定半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 的方法学评价[J]. 中华检验医学杂志,2009,30(11):1284-1287.
- [12] 肖华勇,聂滨. 不同厂家试剂盒检测血清胱抑素 C 的性能比较[J]. 实用医技杂志,2011,18(9):905-907.

(收稿日期:2013-04-18 修回日期:2013-08-28)