

# Roche Cobas e411 检测心肌损伤标志物和降钙素原性能验证\*

王丽萍, 刘玲玲, 褚福祿, 张炳昌<sup>△</sup> (山东大学附属省立医院检验科, 济南 250021)

**【摘要】 目的** 验证 Roche Cobas e411 电化学发光免疫分析法(ECLIA)检测心肌损伤标志物超敏肌钙蛋白 T (hs-cTnT)、肌酸激酶同工酶质量(CK-MB mass)、肌红蛋白(MYO)、脑利钠肽前体氨基末端(NT-proBNP)和降钙素原(PCT)的分析性能。**方法** 参照美国临床和实验室标准化委员会(NCCLS)相关文件,对 Cobas e411 检测 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT 的准确度、精密性、携带污染率、线性范围进行验证。**结果** 按照 EP9-A2、EP5-A2、EP7-A2、EP6-A2 文件要求验证得到各检测项目精密度的变异系数(CV)均小于 3%,携带污染率小于 0.1%;所验证项目的相关系数( $r$ ) $>0.99$ ;验证 hs-cTnT 的功能灵敏度为 3 pg/mL;与厂家声明一致。**结论** Roche Cobas e411 全自动电化学发光分析仪检测心肌损伤标志物和 PCT 的主要分析性能与厂家声明一致,适用于临床医学实验室用于这些项目的检测。

**【关键词】** 降钙素原; 超敏肌钙蛋白 T; 肌酸激酶同工酶质量; 肌红蛋白; 脑利钠肽前体氨基末端

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.21.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)21-3147-03

## Performance verification of Roche Cobas e411 ECLIA analyzer in detecting biomarkers of myocardial injury and PCT\*

WANG Li-ping, LIU Ling-ling, CHU Fu-lu, ZHANG Bing-chang<sup>△</sup> (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Provincial Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong 250021, China)

**【Abstract】 Objective** To verify the analytical performance of the electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) system in the Roche Cobas e411 analyzer for detecting hs-cTnT, CK-MB mass, MYO, NT-proBNP and PCT. **Methods** The accuracy, precision, contamination carryover rate and linear range of ECLIA system in the detection of hs-cTnT, CK-MB mass, MYO, NT-proBNP and PCT were analyzed according to the NCCLS evaluation protocols related guidelines. **Results** CV of precision of each item was all less than 3% according to the requirements of EP9-A2, EP5-A2, EP7-A2 and EP6-A2 documents. The contamination carryover rate of each item was less than 0.1%.  $r$  of each item was more than 0.99. The functional sensitivity of hs-cTnT was 3 pg/mL, which was consistent with manufacturer's claim. **Conclusion** The main analytical performance of the Roche Cobas e411 analyzer in the detection of hs-cTnT, CK-MB mass, MYO, NT-proBNP and PCT is consistent with manufacturer's claim, applicable to clinical laboratory routine testing.

**【Key words】** myocardial injury biomarkers; PCT; performance verification

电化学发光免疫分析(ECLIA)是继放射免疫、酶免疫、荧光免疫、化学发光免疫之后的新一代免疫标记测定技术,其原理是采用双抗体夹心法,将形成的抗原抗体复合物通过生物素与链霉素亲和素间的反应结合到磁性微粒上,在测量池中磁性微粒(带电荷的三联吡啶)通过磁铁吸附到电极上,经清洗电极加电压产生化学发光,光电倍增管将其测定到的发光强度自动对应到标准曲线得出结果。根据 ISO:15189<sup>[1]</sup> (CNAS-CL02,2012)实验室认可的条款要求和《医疗机构临床实验室管理办法》<sup>[2]</sup>的要求,为了保证检验质量,本文参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)相关文件 EP9-A2<sup>[3]</sup>、EP5-A2<sup>[4]</sup> (EP15-A2<sup>[5]</sup>)、EP6-A2<sup>[6]</sup>等的要求,在新引入仪器设备或开展新项目或每年需要对仪器设备的性能进行方法学验证,包括准确度、精密性、携带污染率、线性范围等方面。按照实验室标准化管理的要求,本科对 Cobas e411 所开展的超敏肌钙蛋白 T (hs-cTnT)、肌酸激酶同工酶质量(CK-MB mass)、肌红蛋白

(MYO)、脑利钠肽前体氨基末端(NT-proBNP)和降钙素原(PCT)5个项目进行了方法学性能验证。现将结果报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 仪器** Cobas e411 全自动化学发光分析仪,来自美国 Roche 公司。

**1.2 试剂** Roche 原装试剂:hs-cTnT (批号 17949102)、CK-MB mass (批号 17690701)、MYO (批号 17695501)、NT-proBNP (批号 17804801)和 PCT (批号 17764104);心肌质控品(批号 17458902)、hs-cTnT 质控品(批号 17296804)、PCT 质控品(批号 17764104)。

**1.3 标本来源** 收集 50 例标本,来自 2014 年 6 月山东省立医院门诊患者,溶血、黄疸、脂血等标本剔除,均经 Cobas e411 测定了 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT,用于线性验证,上述所有标本均为常规检测的剩余标本,本研究不采集与患者隐私相关的任何医疗信息。

\* 基金项目:山东省临床重点专科建设项目经费资助项目(鲁卫医学[2013]26号)。

作者简介:王丽萍,女,检验师,本科,主要从事临床检验工作。△ 通讯作者,E-mail:707154036@qq.com。

1.4 方法

1.4.1 测定精密度 根据 NCCLS-EP5-A2 和美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP15-A2 文件,取 Roche 原装 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT 共 5 个项目的试剂,2 水平(高值)和 1 水平(低值)两个浓度的混合质控品。批内精密度:同一天内连续测定 20 次。批间精密度:每天测定 2 次,连续测定 10 d;两个浓度水平,每天分别测定 3 次,连续测定 5 d,同一天两次之间的时间间隔不少于 2 h,计算批内和批间精密度的均值( $\bar{x}$ )、标准差( $s$ )及变异系数(CV),结果必须符合 NCCLS 文件的标准。

1.4.2 测定线性范围 根据 EP6-A2 和 EP7-A2 文件将接近分析仪检测上限的高值标本和检测下限的低值标本混合成,6 个不同浓度的标本,浓度分别为 100%低值,80%低值+20%高值,60%低值+40%高值,40%低值+60%高值,20%低值+80%高值,100%高值。混合后将各浓度标本分别测定 3 次后取均值定为预期值,采用直线回归方程进行数据分析,直线回归方程为  $Y=aX+b$ ,要求  $a$  值在 0.97~1.03, $r \geq 0.975$ 。

1.4.3 携带污染率 根据 EP10-A2 文件要求,选取一份接近分析仪检测上限的高浓度标本(H)和一份检测下限的低浓度标本(L),按国际血液学标准化委员会制定的程序,将高值标本连续测定 3 次( $H_1, H_2, H_3$ ),紧接着连续测定低值标本 3 次

( $L_1, L_2, L_3$ ),携带污染率计算公式为  $[(L_1 - L_3)/(H_3 - L_3)] \times 100\%$ ,携带污染率小于 0.5%为合格。

1.4.4 测定功能灵敏度 检测低限验证:以日内重复 CV 为 20%时,对应检测限样品具有的平均浓度,确定为检测系统或方法可定量报告分析物的最低浓度的限值,可用来证明测量范围最低限值的可重复性。取已知浓度的患者标本进行稀释,连续检测,最少 20 次,根据批间  $CV \leq 20\%$  时的最大稀释管浓度作为功能灵敏度。本实验室所开展项目中肌钙蛋白 T 属于超敏系列,根据临床实际需要,只验证 hs-cTnT 的功能灵敏度。

1.5 统计学处理 实验数据采用 Microsoft Excel 2003 及 SPSS13.0 软件做直线回归和偏倚分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,相关分析采用 pearson 相关分析。

2 结果

2.1 准确度结果 本实验室参加 2014 年卫生部临检中心心肌标志物和 NT-proBNP 的室间质评,各项目质评结果得分均为 100%,当前性能解释为“满意”,累计性能解释为“成功”。PCT 参加了 2014 年朗道 RIQAS 的 immunoassay speciality 1 全球室间质评,12 次的结果均为满意。

2.2 精密度结果 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT5 个项目的精密度结果如表 1 所示。

表 1 精密度统计结果(%)

项目	批内精密度				批间精密度			
	Control 1		Control 2		Control 1		Control 2	
	实验结果	厂商声明	实验结果	厂商声明	实验结果	厂商声明	实验结果	厂商声明
hs-cTnT	2.02	2.1	1.36	1.5	2.99	3.6	2.03	2.2
CK-MB	1.68	1.9	1.26	1.9	2.07	2.4	2.57	2.7
MYO	0.98	1.2	0.73	1.1	1.21	1.3	1.08	1.3
BNP	2.36	2.6	1.08	1.2	1.71	2.8	1.36	1.6
PCT	1.26	1.3	0.79	0.9	2.81	3.7	1.37	4.0

注:厂方说明书的精密度是按 NCCLS 的 EP5-A2 执行,采用标准血浆,两个浓度水平,每天分别测定 4 次,连续测定 21 d。本科室按照实验室验证的 NCCLS-EP5-A2(两个浓度水平,每天分别测定 2 次或 4 次,连续测定 10 d 或 5 d)和 EP15-A2(两个浓度水平,每天分别测定 3 次,连续测定 5 d)文件,但 EP15-A2 验证结果都偏大于厂商说明,而 EP5-A2 验证结果都符合厂商说明。因此,建议实验室按照 EP5-A2 文件验证。

2.3 线性范围验证 经计算得 BNP、PCT、MYO、CK-MB、hs-cTnT 的回归系数分别为 0.986 0、0.985 6、1.001 0、0.994 6、1.015 1, $r$  为 0.994 1、0.999 4、0.999 9、0.999 6、0.996 1。以 BNP 项目为例,统计和分析结果见表 2、图 1。

表 2 BNP 线性统计结果(pg/mL)

稀释度	重复次数			实测均值	理论值
	1	2	3		
100%低值	7.52	7.39	8.63	7.85	7.85
80%低值+20%高值	5 112	5 108	4 964	5 061	6 409.41
60%低值+40%高值	10 577	10 591	10 413	10 527	12 810.97
40%低值+60%高值	16 882	17 743	17 612	17 412	19 212.54
20%低值+80%高值	24 599	24 818	24 730	24 716	25 614.10
100%高值	31 814	32 260	31 973	32 016	32 016.00

2.4 携带污染率 经统计得 BNP、PCT、MYO、CK-MB、Hs-cTnT 的携带污染率分别为 0.00%、0.00%、0.06%、0.01%、0.02%。以 BNP 项目为例,携带污染率的统计结果见表 3。

2.5 功能灵敏度验证 经验证,hs-cTnT 检测灵敏度为 3 pg/mL,日内重复 CV% 为 18.33% < 20%,与试剂说明书要求符合,验证合格。

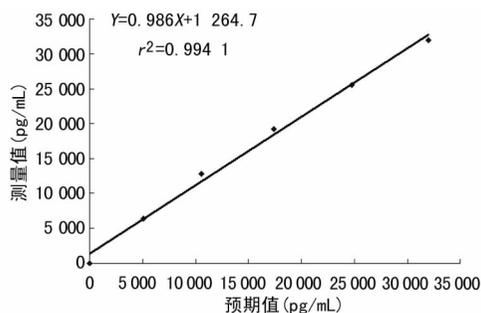


图 1 BNP 的线性分析图

表 3 BNP 的携带污染率统计结果

项目	高值测定结果			低值测定结果			高值干扰	低值干扰
	H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub>	H <sub>3</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>1</sub> -L <sub>3</sub>	H <sub>3</sub> -L <sub>3</sub>
BNP	31 814	32 260	31 973	7.53	7.39	8.63	-1.24	31 964.37

根据携带污染率计算公式计算： $(L_1 - L_3) / (H_3 - L_3) \times 100\% = 1.24 / 31\,964.37 \times 100\% = 0.00\%$ 。

### 3 讨 论

Roche Cobas e411 分析仪是应用 ECLIA 的原理<sup>[7]</sup>进行肿瘤标志物、甲状腺功能、激素、心肌标志物等检测,其通过罗氏封闭检测系统来完成对各检测项目的检测,说明书中提供的所有参数都是厂家在国外的最佳条件下完成的,这与本科室的水质、电压的稳定性、实验室环境温湿度、实验室操作人员的素质等实际的外部条件存在差异,因此,对本科在 Cobas e411 上开展的 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT 共 5 个项目进行了的方法学性能验证。

**3.1 精密度** 由表 1 可以看出,按照 NCCLS 的 EP5-A2 文件所有 5 个项目的批内及批间精密度都能满足厂家声明的性能,与苏维等<sup>[8]</sup>结论一致,但与杨苹等<sup>[9]</sup>的结论不一致,可能与检测项目不同,试剂盒性能也有差异有关。按照 EP15-A2 验证的精密度不能满足厂家声明的性能,与欧阳能良等<sup>[10]</sup>结论相似。因此,建议实验室按照 EP5-A2 文件验证。通过验证结果可以看出,在精密度验证上,CK-MB mass 验证结果偏差最大,可能与 CK-MB 属于酶类,易受很多因素影响而活性改变有关,而本试验验证过程使用的非同一样品,该试剂的瓶间差较其他 4 种试剂偏大。

**3.2 线性范围** 由表 2 可以看出,本研究验证的 5 个检测项目的线性范围与厂家声明的一致,与苏维等<sup>[8]</sup>结论一致。

**3.3 携带污染** Cobas e411 在加入标本和试剂前,会自动冲洗加样针,且标本检测时,一个标本一个吸头,一个项目一个杯子,携带污染率及抗干扰能力强,由表 3 可以看出,本次验证的 5 个检测项目与厂家声明的一致,检测结果准确、可靠。

**3.4 功能灵敏度** 根据临床实际应用需要,本研究只进行了 hs-cTnT 功能灵敏度的验证,结果与厂家声明的一致。Roche cobas e411 是全自动、随机的异相免疫分析系统。该系统采用最先进的电化学发光免疫分析技术,具有高灵敏度、高特异性、高亲和力、高准确度、线性范围宽、自动化程度高、无放射线污染、操作简便快速等特点。实验结果显示 Roche Cobas e411 全自动化学发光分析仪检测 hs-cTnT、CK-MB mass、MYO、NT-proBNP 和 PCT 的主要分析性能良好,与厂家声明一致,能够

满足临床检测的性能要求,适用于临床标本的检测。

### 参考文献

- [1] ISO 15189. Medical laboratories-Requirements for quality and competence [S]. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2012.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法 [S]. 2006-02-27.
- [3] NCCLS. EP9-A2. Method comparison and bias estimation using patient samples. Approved Guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- [4] NCCLS. EP5-A2. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [5] CLSI. EP15-A2. User verification of performance for precision and trueness; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.
- [6] NCCLS. EP6-A2. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [7] 董伟. 新型的电化学发光免疫分析及临床应用[M]. 标记免疫分析与临床, 2001, 8(1): 31-32.
- [8] 苏维, 李明, 王淑仙, 等. 罗氏 Cobas E601 检测糖原抗原的方法学性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(6): 716-718.
- [9] 杨苹, 周爱娥, 张莉萍, 等. 罗氏 MODULAR E170 全自动电化学发光免疫分析仪性能验证[J]. 重庆医学, 2013, 38(19): 2395-2397.
- [10] 欧阳能良, 王伟佳, 李飞, 等. 应用 CLSI EP15-A2 文件评价 BNP 和 NT-proBNP 的精密度性能[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 538-540.

(收稿日期: 2015-03-13 修回日期: 2015-08-17)

(上接第 3146 页)

et al. CD4 and CD8 T Cells in Susceptibility/Protection to Collagen-Induced Arthritis in HLA-DQ8-Transgenic Mice; Implications for Rheumatoid Arthritis[J]. J Immunol, 2002, 168(11): 5867-5875.

[21] 仝岩, 任伟宏, 赵航, 等. 类风湿性关节炎患者外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志,

2013, 29(8): 854-858.

[22] 李忠, 谢东霞. 类风湿性关节炎患者 T 细胞亚群及 Th1/Th2 细胞因子的分析[J]. 中国中医药杂志, 2010, 8(23): 192-193.

(收稿日期: 2015-03-04 修回日期: 2015-07-08)