

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.02.017

第二代与第三代罗氏游离甲状腺素试剂的可比性验证和偏倚评估

熊茂程¹, 李良敏^{1△}, 黄 芮², 毕冬明¹, 李 杨¹

1. 成都中医药大学附属医院核医学科, 四川成都 610000;

2. 四川省成都市华阳社区卫生服务中心检验科, 四川成都 610000

摘要:目的 评价罗氏全自动化学发光免疫分析系统(Cobas e601)试剂盒由第二代游离甲状腺素(FT4 II)换为第三代游离甲状腺素(FT4 III)后,二者检测结果的一致性。**方法** 使用双份样本试验并去除群值以检测两代试剂的稳定性,参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)的EP9-A3文件用患者标本对两代试剂进行可比性验证及偏倚评估;对参考区间临界值适用性进行验证,通过稀释阳性标本得到高于临界水平20%的20份标本和低于临界水平20%的20份标本进行检测。运用统计学软件SPSS23.0对数据进行统计分析。**结果** 两代试剂的检测结果在不同水平组中具有良好的相关性,相关系数均大于0.95,而二者在不同水平组中百分比偏倚有所不同;高于临界水平20%的样品检测结果20次,低于临界水平20%的检测结果为20次,验证通过。**结论** 通过比对试验对两代试剂预先进行偏倚评估,可有效降低游离甲状腺素试剂换代对甲状腺功能检测和甲状腺治疗疗效监测的干扰,同时有效降低了参考区间临界值附近出现的假阳性率。

关键词: 游离甲状腺素; 甲状腺疾病; 偏倚; 可比性

中图法分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)02-0207-04

Comparability verification and bias evaluation of the upgrading of Roche free thyroxineXIONG Maocheng¹, LI Liangmin^{1△}, HUANG Rui², BI Dongming¹, LI Yang¹

1. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional

Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610000, China; 2. Department of Clinical Laboratory,

Huayang Community Health Service Center, Chengdu, Sichuan 610000, China

Abstract: Objective To evaluate the consistency of detection results of Cobas e601 kit after upgrading from the second generation of free thyroxine (FT4 II) to the third generation of free thyroxine (FT4 III). **Methods** The stability of the two reagents were tested with two samples and the outliers were removed. According to CLSI EP9-A3, the two reagents were compared with each other in comparability verification and bias assessment. The applicability of the critical value of the reference interval was verified by diluting the positive samples, and 20 samples higher than 20% of the critical concentration and 20 samples lower than 20% of the critical concentration were obtained for detection. SPSS23.0 was used to analyze the data. **Results** The results of these two reagents had good correlation in different concentration groups, the correlation coefficient was more than 0.95, the percentage bias of the two groups was different in different concentrations. The test results of the samples above 20% of the critical concentration were 20 times, and those below 20% of the critical concentration were 20 times, so verification passed. **Conclusion** The bias evaluation of the two reagents has been carried out in advance through the comparative test, which effectively reduce the interference of the upgrading of free thyroxine reagents on the thyroid dysfunction and the monitoring of the therapeutic effect of thyroid, at the same time, the false positive rate near the critical value of the reference interval is effectively reduced.

Key words: free thyroxine; thyroid disease; bias; comparability

游离甲状腺素(FT4)是甲状腺功能体外试验的灵敏指标,测定不受血清结合蛋白(主要是甲状腺结合球蛋白)的影响,即使生理及病理情况引起血清甲状腺结合球蛋白浓度和结合力改变时,其也能较准确地反映甲状腺的功能^[1]。动态监测 FT4 的浓度可作为

临床用药及疗效监测的重要指标^[2-3]。

本实验室对 FT4 的评估建立在原罗氏全自动化学发光第二代 FT4(FT4 II)基础上,厂商把 FT4 II 升级为 FT4 III 可能是由于降低临床反应的参考区间临界值出现了假阳性的情况。由于两种试剂使用时

作者简介:熊茂程,男,技师,主要从事内分泌腺及全身性疾病的研究。△ 通信作者,E-mail:739962978@qq.com。

本文引用格式:熊茂程,李良敏,黄芮,等.第二代与第三代罗氏游离甲状腺素试剂的可比性验证和偏倚评估[J].检验医学与临床,2021,18(2):207-209.

产生的偏倚会对临床用药及疗效监测产生影响,因此在将 FT4 II 试剂升级为 FT4 III 试剂前,需参考美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 文件 EP9-A3《用患者样本进行方法学比对及偏倚评估》对二者检测结果进行对比分析^[4],预先对两种试剂的偏倚进行评估,通过与临床进行有效沟通、解释说明,从而降低试剂换代对临床诊断的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 连续 4 d,每天收集 20 例患者新鲜血清标本,共 80 例,2~8 °C 低温保存(罗氏试剂说明书标本保存要求,2~8 °C 可稳定保存 7 d)。依据 FT4 II 的两点定标信号值对应的浓度范围(8~39 pmol/L)^[5]和参考范围(12~22 pmol/L)将收集的 80 例血清标本分为 3 个水平:3~<12 pmol/L,12~<22 pmol/L,22~<39 pmol/L,分别为 20、37、23 例。纳入标准:非心脑血管、肝、肾、肺等机体重要器官器质性病变和功能障碍的患者;非妊娠期及哺乳期女性;年龄 18~48 岁;剔除溶血、脂血、黄疸标本。

1.2 仪器与试剂 罗氏全自动化学发光免疫分析系统 Cobas e601。使用的试剂包括:(1)FT4 II 试剂盒及其配套的辅助试剂(校准品,质控品)。(2)FT4 III 试剂盒及其配套的辅助试剂(校准品,质控品)。两代试剂具体参数见表 1。

表 1 两代试剂参数

试剂名称	检测原理	检测时间 (min)	测量范围 (pmol/L)	参考区间 (pmol/L)	允许总误差
FT4 II	竞争结合法	18	0.3~100.0	12~22	≥30%
FT4 III	竞争结合法	18	0.5~100.0	12~22	<20%

1.3 方法

1.3.1 比对方案 参照 EP9-A3 文件《用患者样本进行方法学比对及偏倚评估》,以原 FT4 II 试剂盒作为比较方法,使用 FT4 II 试剂盒配套的校准品、质控品及其辅助试剂;升级后的 FT4 III 试剂盒作为试验方法,使用 FT4 III 试剂盒配套的校准品、质控品及其辅助试剂。

1.3.2 标本测定 收集的 80 例临床标本在罗氏全自动化学发光免疫分析系统 Cobas e601 上分别用 FT4 II 试剂和 FT4 III 试剂检测,每份标本平均平行测定两次。

1.4 统计学处理 运用 SPSS23.0 对数据进行统计分析。(1)设比较方法 FT4 II 试剂检测的结果为 X 值,试验方法 FT4 III 试剂检测的结果为 Y 值,数据以线性回归式 $Y=bX+a$ 表示,b 和 a 分别表示两方法间的比例偏倚和系统偏倚^[6-8]。(2)计算每份标本两次测定差值绝对值 DX_i 、 DY_i (i 为测定标本序号),剔除离群值^[9]。(3)3 个水平数据分别以 FT4 II 试剂盒检测的平均值 X_i 对应 FT4 III 试剂盒检测的平均值 Y_i 得出 3 组数据作 3 组散点图,并以全部数据作总体数

据散点图。(4)计算两种检测方法平均值的百分偏倚, $(Y_i - X_i) \div X_i \times 100$ (Y 值) 对应比较方法测定的平均水平值(X 值)作散点图,得出百分比偏倚图。

2 结果

以总的检测数据绘制 Y_i 对 X_i 的散点图, $(Y_i - X_i) \div X_i \times 100$ 对 X 的百分比偏倚图见图 1~4,以 FT4 II 平均值 X_i 与 FT4 III 平均值 Y_i 的差值分布图见图 5。总体数据的线性方程为 $Y = 0.9465X - 0.3374$, $R^2 = 0.9925 > 0.95$ 。此方程线性良好,则认为 X 范围合适,线性回归的斜率和截距可靠,FT4 III 试剂盒检测结果与原 FT4 II 试剂盒检测结果具有高度的一致性。从图 2~4 的百分比偏倚图可知整个数据呈单侧偏倚,具有一致性,偏倚在 1%~16%,平均偏倚为 -7.56%,符合美国临床实验室改进修正法规 88 (CLIA '88) 能力比对检验的分析质量要求,但在各水平偏倚有所不同:3~<12 pmol/L 水平,偏倚范围较大,在 1%~16%;12~<22 pmol/L 水平,偏倚在 4%~12%;22~<39 pmol/L 水平,偏倚范围较大,在 1%~12%。从图 5 的 FT4 II 均值 X_i 与 FT4 III 均值 Y_i 的差值分布图可得出差值基本分布在 0~2.5。同时,各水平数据 $R^2 > 0.95$,X 取值范围合适,直线回归统计的斜率和截距可靠。高于临界水平 20% (即 >26.4 pmol/L) 的样品检测结果为 20 次,低于临界水平 20% (即 <9.6 pmol/L) 的检测结果为 20 次。临界值验证通过,满足要求。比较平均值 X_i 、平均值 Y_i 两组数据,以罗氏试剂说明书健康人群参考区间 12~22 pmol/L 为依据,大于参考区间 (即 >22 pmol/L) 即为健康人群参考区间水平共 9 例,占有标本的 11.25%,即为假阳性率。各水平回归方程见表 2。

表 2 4 组数据的回归方程

水平	回归方程	R^2
3~<12 pmol/L	$Y=0.9124X+0.0386$	0.9523
12~<22 pmol/L	$Y=0.8278X+1.3933$	0.9723
22~<39 pmol/L	$Y=0.9733X-0.9260$	0.9672
全水平	$Y=0.9465X-0.3374$	0.9925

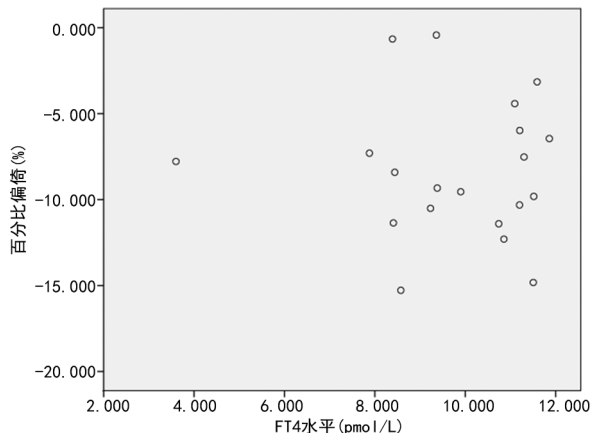


图 1 3~<12 pmol/L 的百分比偏倚图

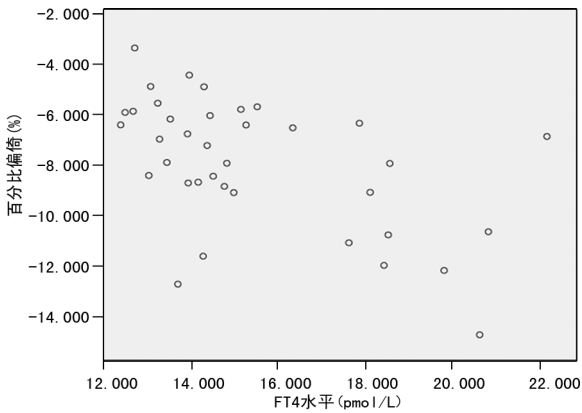


图 2 12~<22 pmol/L 的百分比偏倚图

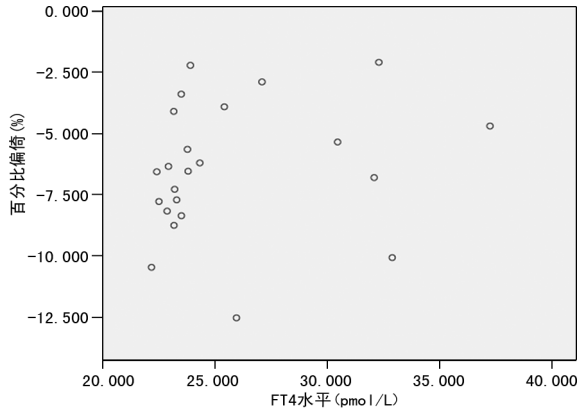


图 3 22~<39 pmol/L 的百分比偏倚图

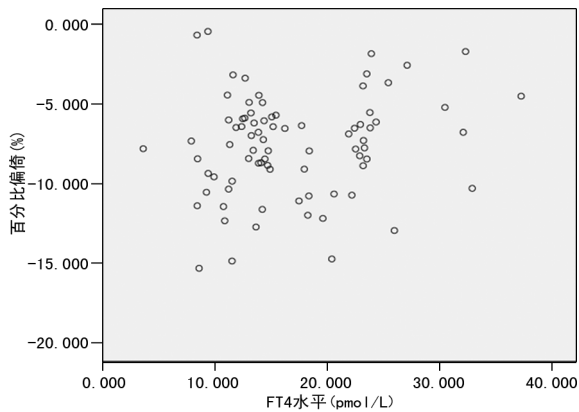


图 4 3~<39 pmol/L 的百分比偏倚图

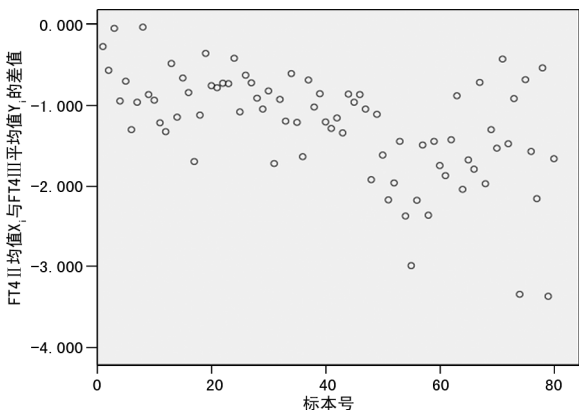


图 5 FT4 II 平均值 X_i 与 FT4 III 平均值 Y_i 的差值分布图

3 讨 论

CLSI 一直致力于制订评价临床试验方法的文

件,于 2013 年 8 月修订最新版 EP9-A3 文件^[10],为生产厂家和临床实验室提供了最新的方法学比对和偏倚评估指南。临床实验室常以此指南作为检测系统之间可比性分析和偏倚评估的依据^[11-12]。然而对于不同试剂,虽然检测的是相同物质,但是检测中所用抗体亲和力、特异度、检测步骤、检测时间可能有所改变^[13],检测结果也会有所不同,所以需要参照指南 EP9-A3 文件进行偏倚评估,降低 FT4 试剂换代对甲状腺功能检测和甲状腺治疗疗效监测的干扰。

FT4 作为临床用药及疗效监测的重要指标,其检测结果的稳定性极其重要^[14]。试剂升级换代对检测结果可能造成较大的影响,本研究对两种试剂检测结果进行了比对,全部数据的线性方程为 $Y=0.9465X-0.3374$, $R^2=0.9925>0.95$,线性良好,表明精密度达到要求。依据 CLIA'88 能力验证计划的分析质量要求(允许总误差),FT4 的系统误差在接受范围靶值 $\pm 3s$ ^[15]。本研究为临床医生评估试剂换代对诊疗造成的影响大小提供依据,并且通过试剂升级换代有效降低临床和厂家提出的正常参考区间上限出现的假阳性的概率,为甲状腺功能紊乱等甲状腺疾病患者治疗疗效的监测提供了更为准确的检测数据。

参考文献

- [1] 吴辉. 甲状腺功能检测在妊娠妇女中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(12): 1508-1509.
- [2] KIM S W, JEON J H, MOON J S, et al. Low-Normal Free Thyroxine Levels in Euthyroid Male Are Associated with Prediabetes[J]. Diabetes Metab J, 2019, 43(5): 718-726.
- [3] PATRICK M, JOHANNES W D, LIN T, et al. Usefulness of Serum Free Thyroxine Concentration to Predict Ventricular Arrhythmia Risk in Euthyroid Patients With Structural Heart Disease[J]. Am J Cardiol, 2020, 125(8): 1162-1169.
- [4] 周惠玲, 郑淑仪. CLSI EP9-A3 在日立和罗氏生化分析仪比对中的应用[J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29(8): 112-113.
- [5] 潘开拓, 姜朝新, 曾令恒, 等. 同一品牌不同类型血细胞分析仪的校准及比对分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(5): 587-590.
- [6] 关小勇, 杨婷, 李雪丽, 等. 雌二醇试剂盒换代升级的偏倚评估和可比性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(17): 2374-2375.
- [7] CAI A J, QI S W, SU Z W, et al. Method comparison and bias estimation of blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), and uric acid (UA) measurements between two analytical methods[J]. Clin Lab, 2017, 63(1): 73-77.
- [8] 周后钢, 毛安华, 谭浩. 不同标本测定儿童 25-羟基维生素 D 的比对分析及偏移评估[J]. 检验医学, 2017, 32(11): 1036-1038.
- [9] 李玉武, 任立军, 闫岩, 等. 方法标准验证实验数据中离群值的识别[J]. 中国环境监测, 2017, 33(5): 167-175.
- [10] 石文, 戴永辉, 邱峰, 等. CLSI EP9-A3 在(下转第 213 页)

的发生具有密切关系,通过动态测定 Lp-PLA2 水平可以对 RH 患者进行风险评估。Lp-PLA2 是磷脂酶 A2 超家族蛋白,由多种炎症细胞合成和分泌,在炎症因子的调节下,与脂蛋白颗粒相结合,水解氧化型 LDL 能够产生游离脂肪酸和溶血磷脂酰胆碱,具有促炎、促凋亡作用,导致血管内皮损伤,引起血管的舒缩功能紊乱,血管的持续收缩,水钠潴留增加可引起血压持续升高。其次,Lp-PLA2 导致的慢性炎症反应引起交感神经的激活也可能导致儿茶酚胺释放和肾素-血管紧张素轴的激活,导致血压的升高^[9];另外,hs-CRP、Lp-PLA2 等触发的炎症反应与高血压间互相影响,引起血管内皮功能紊乱,导致 RH 及其并发症的发生、发展,以及血管阻力的增高,加速动脉粥样硬化的进程,导致心血管疾病的发生^[14-15]。

综上所述,RH 患者 Lp-PLA2 水平异常升高,动态监测 Lp-PLA2 水平有助于临床对该疾病的治疗。

参考文献

[1] SINNOTT S J, SMEETH L, WILLIAMSON E A. Trends for prevalence and incidence of resistant hypertension: population based cohort study in the UK 1995-2015[J]. *BMJ*, 2017, 358: j3984.

[2] 谭明娟,崔薇薇,金玲,等. Lp-PLA2 的检测在冠状动脉狭窄患者中的临床意义[J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(4): 541-545.

[3] CABRERA R, ARARAT M, XU Y, et al. Immune modulation of effector CD4⁺ and regulatory T cell function by sorafenib in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(4): 737-746.

[4] HUANG F, WANG K, SHEN J. Lipoprotein-associated phospholipase A2: The story continues[J]. *Med Res Rev*, 2020, 40(1): 79-134.

[5] MANCIA G, FAGARD R, NARKIEWICZ K, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension

(ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(28): 2159-2219.

[6] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟(中国), 中华医学会心血管病学分会, 等. 中国高血压防治指南(2018 年修订版)[J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24(1): 1-42.

[7] LI Z, LIU J, SHEN Y, et al. Increased lipoprotein-associated phospholipase a2 activity portends an increased risk of resistant hypertension[J]. *Lipids Health Dis*, 2016, 15: 15.

[8] 刘丽娟,李琳,柳茵,等. 原发性高血压患者脂蛋白相关磷脂酶 A2 浓度水平及临床意义的研究[J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(9): 147-149.

[9] 黄国定,卢宏全,潘敏丽,等. 血浆 Lp-PLA2 活性与难治性高血压的相关性[J]. *广东医学*, 2016, 37(17): 2611-2613.

[10] BARBARO N R, FONTANA V, MODOLO R, et al. Increased arterial stiffness in resistant hypertension is associated with inflammatory biomarkers[J]. *Blood Press*, 2014, 24(1): 1-7.

[11] 马彩云,任凤学,许振业,等. 冠心病合并糖尿病患者血清炎症因子水平变化及其临床意义[J]. *心肺血管病杂志*, 2019, 38(4): 330-333.

[12] CHERNOVA I, KRISHNAN N. Resistant hypertension updated guidelines[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2019, 21(10): 117.

[13] LEE H J, KANG H J, KIM K M, et al. Fibroblast growth factor receptor isotype expression and its association with overall survival in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2015, 21(1): 60-70.

[14] 殷云杰,杨松,陈燕春,等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与老年冠心病患者 PCI 术后心肌损伤的相关性研究[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(7): 606-610.

[15] 陆梦丽. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 检测方法及其临床应用进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(18): 2313-2316.

(收稿日期:2020-05-02 修回日期:2020-09-11)

(上接第 209 页)

血液分析仪比对中的应用[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(1): 67-69.

[11] 孙京花,陈昊,邸平,等. 两种尿液干化学分析仪的稳定性和检测结果的一致性评价[J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(18): 2729-2732.

[12] 嵯金花,刘秀荣,程世亮,等. 3 台不同型号光电血细胞分析仪检测结果一致性评价[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(6): 799-801.

[13] 张建锋. 磁微粒-吡啶酯化学发光游离甲状腺素检测试剂

的研制及应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(19): 2773-2775.

[14] 李悦,陈亚琼,覃俊龙,等. 雅培 i2000SR 全自动化学发光分析仪检测甲状腺功能五项的性能验证[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(22): 3243-3247.

[15] 刘慧玲,王冰,张颖,等. 不同来源允许总误差和偏移在西格玛性能评价中的差异[J]. *检验医学*, 2019, 34(7): 648-650.

(收稿日期:2020-05-03 修回日期:2020-09-21)