

参照 CLSI EP 文件评价两种类风湿因子测定试剂的优劣

曾崇亮(四川省成都市传染病医院检验科 610066)

【摘要】 目的 参照美国临床实验室标准化协会 EP 文件评价两种类风湿因子(RF)测定试剂的优劣,建立实验室可用的同类试剂评价方案,便于择优选用。**方法** 针对两种不同方法的血清 RF 测定试剂进行初步评价。分析两种方法测定血清 RF 的精密度、功能灵敏度、测定范围和干扰因素。**结果** 胶乳增强免疫比浊法和免疫比浊法测定 RF 的精密度分别为 4.58%(低值)、2.83%(高值)和 7.19%(低值)、2.90%(高值);功能灵敏度为 2 U/mL 和 9 U/mL,测定范围分别为:2~140 U/mL 和 0~300 U/mL;抗干扰能力分别为胆红素:≤342 μmol/L 和 ≤500 μmol/L,血红蛋白:≤10 g/L 和 ≤5 g/L,三酰甘油:≤11.3 mmol/L 和 ≤6.75 mmol/L;试剂开瓶后多批次反复测定 CV 分别为:4.35%(高值)、4.89%(低值)和 4.45%(高值)和 7.39%(低值)。**结论** 胶乳增强免疫比浊法是测定血清 RF 较好的方法,快速、准确、灵敏度和精密度高,且结果准确,相对免疫比浊法在功能灵敏度、精密度、抗干扰能力方面更佳,但测定范围低于免疫比浊法。

【关键词】 类风湿因子; 胶乳增强免疫比浊法; 免疫比浊法; 精密度; 功能灵敏度; 测定范围; 干扰因素; 稳定性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.10.020 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)10-1241-02

Evaluating the advantages and disadvantages between two kinds of rheumatoid factor reagents according to CLSI EP9-A2 ZENG Cong-liang (the Laboratory Medicine of the Infectious Diseases Hospital of Chengdu, Sichuan 610066, China)

【Abstract】 Objective To Evaluate the advantages and disadvantages between two kinds of rheumatoid factor (RF) reagents according to CLSI EP to set up the similar reagents evaluation program for laboratory. **Methods** Precision, function sensitivity, measuring range and anti-interference ability of two methods reagents were evaluated. **Results** The precision of Latex Turbidimetric Immunoassay kit was 4.58% (low level) and 2.83% (high level), the function sensitivity was 2 U/mL, the measuring range was 2~140 U/mL, bilirubin≤342 μmol/L, hemoglobin≤10 g/L and chylomicron≤11.3 mmol/L would not disturb the results of RF. 4.35% (high level) and 4.89% (low level) were the between run CV according to opened kits test. The precision of Turbidimetric Immunoassay kit was 7.19% (low level) and 2.90% (high level), the function sensitivity was 9 U/mL, the measuring range was 0—300 U/mL, bilirubin≤500 μmol/L, hemoglobin≤5 g/L and chylomicron≤6.75 mmol/L would not disturb the result of RF. 4.45% (high level) and 7.39% (low level) were the between run CV according to opened kits test. **Conclusion** Compared with Turbidimetric Immunoassay kit, the precision, function sensitivity and anti-interference ability of letax Turbidimetric Immunoassay kit might be better, but the measuring range could be not.

【Key words】 rheumatoid factor; Letax Turbidimetric Immunoassay; Turbidimetric Immunoassay; precision; sensitivity; measuring range; interfering factors; stability

类风湿因子(RF)是一种以变性 IgG 为靶抗原的自身抗体,无种属特异性^[1-2]。RF 与天然 IgG 结合能力较差,但易与免疫复合物中的 IgG 或聚合 IgG 反应。RF 测定方法有很多,如胶乳凝剂试验、双抗原夹心法、酶联免疫吸附试验、速率散射比浊法、免疫比浊法,前面几种方法需手工操作,标本用量较大,且费时。免疫比浊法临床操作简单,灵敏度高,在临床上广泛应用。同时免疫比浊又分为胶乳增强免疫比浊法和免疫比浊法,胶乳增强免疫比浊法是由特异抗体结合胶乳颗粒表面,标本中的 RF 与其结合,并使相邻的乳胶颗粒彼此交联,具有较好的放大作用。本文依据美国临床实验室标准化协会颁发的 EP7-A2 和 EP9-A2 文件^[3-4],对胶乳增强免疫比浊和免疫比浊法测定 RF 进行了初步评价,报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本采集 试验组为本院 2010 年 10 月至 2011 年 9 月的类风湿关节炎患者,其中男 22 例,女 18 例,年龄 22~40 岁,诊断均符合美国风湿病学会 1987 年修订的标准^[5];对照组为

健康人 62 例。

1.2 试剂与校准品 试剂分别为 A 厂家提供的 RF 胶乳增强免疫比浊法测定试剂盒(批号:0311021)及配套校准品(批号:0311012),B 厂家提供的 RF 免疫比浊法测定试剂盒(批号:104151C)及配套校准品(批号:106281LY)。

1.3 质控品 朗道特殊蛋白质质控品 212LPC 与 198LPC。

1.4 仪器 采用日立 7180 全自动生化分析仪进行检测。

1.5 主要分析参数 严格按照仪器、试剂说明书及相关实验室技术操作规程进行设定。

1.6 评价方法

1.6.1 精密度 取高、低值两种不同水平的混合血清 RF 样品,用 A 厂家和 B 厂家提供的试剂测定 20 次,计算均值 CV。

1.6.2 测定范围 准备高浓度(H)和低浓度(L)水平的样本,依照 5/5L+0/5H、4/5L+1/5H、3/5L+2/5H、2/5L+3/5H、1/5L+4/5H、0/5L+5/5H 的比例制成一系列浓度的样本,用两种方法的试剂对每个样本做 3 次重复测定,对理论浓度与实

际浓度进行线性回归分析,得到相关系数(r) ≥ 0.95 的范围为线性范围。

1.6.3 干扰试验 参照 EP7-A2 文件的评价方法测定临床标本,先将其分成 $4n+1$ 份,每组(胆红素组、三酰甘油组、血红蛋白组和维生素 C 组共 4 组)中的 n 份分别加入不同浓度的该种干扰物质,另 1 份作为干扰试验的基准对照组,即加入干扰物质的浓度为 0。用 2 个厂家试剂测定所有样本,各重复测定 3 次,计算各自的干扰值。

1.6.4 功能灵敏度 用临床样本(浓度为 8 U/mL)加入生理盐水对倍稀释,组成“检测限”样本,分别测定 20 次,计算变异系数(CV),当 $CV\leq 20\%$ 时的最大稀释浓度作为功能灵敏度。

1.6.5 试剂的开瓶稳定性观察 取 A 厂家和 B 厂家试剂开瓶后分别放入日立 7180 的试剂仓中,时间为 30 d,每天测定质控品 3 次,记录并取均值。

1.7 统计学方法 计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。数据用 Excel 录入,采用 SPSS16.0 软件进行统计分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密度评价 根据实验结果得出 A 厂家和 B 厂家试剂的精密度,见表 1。

表 1 2 个厂家试剂的精密度比较

厂家		$\bar{x}\pm s(\text{U/mL})$	CV(%)
A 厂家	低值	10.00 $\pm$ 0.46	4.58
	高值	53.2 $\pm$ 1.51	2.83
B 厂家	低值	9.55 $\pm$ 0.69	7.19
	高值	53.05 $\pm$ 1.54	2.90

2.2 测定范围 测定数据录入 Excel 表格,使用 SPSS16.0 软件统计分析其吸光度变化值的平均值与对应浓度的线性关系,回归方程和 r 分别为:A 厂家 $Y=0.996\ 2X-0.046\ 7$; $r=0.999\ 3$,测定范围 2~140 U/mL。B 厂家 $Y=0.992\ 3X-0.062\ 4$; $r=0.999\ 7$,测定范围 0~300 U/mL。

2.3 干扰试验 A 厂家试剂抗干扰能力为:胆红素小于或等于 342 $\mu\text{mol/L}$,血红蛋白小于或等于 10 g/L,三酰甘油小于或等于 11.3 mmol/L 以内测定结果良好。B 厂家试剂抗干扰能力为:胆红素小于或等于 500 $\mu\text{mol/L}$,血红蛋白小于或等于 5 g/L,三酰甘油小于或等于 6.75 mmol/L 以内测定结果良好。

2.4 功能灵敏度 A 厂家试剂功能灵敏度为 2 U/mL,B 厂家试剂功能灵敏度为 9 U/mL。

2.5 开瓶稳定性观察 见表 2。

表 2 2 个厂家试剂的开瓶稳定性比较

厂家		$\bar{x}\pm s(\text{U/mL})$	CV(%)
A 厂家	低值	45 $\pm$ 2.20	4.89
	高值	54 $\pm$ 2.35	4.35
B 厂家	低值	48 $\pm$ 2.45	7.39
	高值	55 $\pm$ 3.55	4.45

3 讨 论

RF 是一类自身抗体,包括所有类型的免疫球蛋白,他们是抗生素变性或聚合 IgG 分子 FC 片段的抗体,诊断所检测的 RF 主要是 RF-IgM,主要用于辅助诊断各种类风湿疾病^[5-7]。

本文采用目前市售的两种免疫比浊法方法试剂进行评估,研究结果为:胶乳增强免疫比浊法和免疫比浊法测定 RF 的精密度分别为 4.58%(低值)、2.83%(高值)和 7.19%(低值)、2.90%(高值),功能灵敏度为 2 U/mL 和 9 U/mL,测定范围分别为:2~140 U/mL 和 0~300 U/mL;抗干扰能力分别为胆红素: $\leq 342\ \mu\text{mol/L}$ 和 $\leq 500\ \mu\text{mol/L}$,血红蛋白: $\leq 10\ \text{g/L}$ 和 $\leq 5\ \text{g/L}$,三酰甘油: $\leq 11.3\ \text{mmol/L}$ 和 $\leq 6.75\ \text{mmol/L}$;试剂开瓶后 30 d 反复测定 CV 分别为:4.35%(高值)、4.89%(低值)和 4.45%(高值)和 7.39%(低值)。根据试验结果可以看出胶乳增强免疫比浊法试剂的精密度、功能灵敏度、开瓶稳定性低值测定方面明显优于免疫比浊法试剂,抗干扰能力中抗血红蛋白和三酰甘油方面要比免疫比浊法效果好,测定范围和抗胆红素方面低于免疫比浊法,开瓶稳定性高值测定方面二者差异无统计学意义。两种试剂各有优势,因血清中 RF 的含量比较低,其医学决定水平为 30 U/mL,胶乳增强免疫比浊法测定 RF 具有很好的精密度和功能灵敏度,能够更好地满足临床需求,测定低浓度 RF 更有优势^[8]。试剂开瓶稳定性观察结果两种方法在高端差异不大,而在低端有明显的区别,开瓶 30 d 后胶乳增强免疫比浊法试剂吸光度无明显变化,说明该试剂胶乳包被技术稳定,试剂均一性较好,不会随着时间的延长出现沉淀现象。

综上所述,经过本试验方案结果对比可以看出,A 厂家生产的胶乳增强免疫比浊法试剂性能明显优于 B 厂家生产的免疫比浊法试剂,而且 A 厂家试剂价格更便宜,符合择优选用的原则。本次试验中只选择了精密度、功能灵敏度、测定范围、干扰试验和开瓶稳定性等 5 项指标进行检测,原因在于可操作性。医院检验科应该根据实际情况,正确选择合适的性能评估指标进行试剂评价试验。目前市面上检测同类型指标的试剂非常杂多,通过本次试验,本科室建立了本院检验科可用的同类试剂评价方案,便于择优选用。

参考文献

[1] 颜向军,谢海涛.两种测定类风湿因子方法的比较[J]. 南华大学学报:医学版,2007,35(2):216-218,224.

[2] 郭明阳,周厚永,张明友.类风湿因子阳性意义评价[J]. 西南军医,2004,6(4):49-50.

[3] Laverdiere M,Restieri C,Habel F. Evaluation of the in vitro activity of caspofungin against bloodstream isolates of Candida speciefrom Cancer patients;comparison of E-test and NCCLS reference methods[J]. Int J Antimicrob Agents,2002,20(6):468-471.

[4] 杨有业,张秀明.临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:64.

[5] 齐育英.抗环瓜氨酸肽抗体与类风湿因子联合检测在诊断类风湿关节炎中的临床意义[J]. 检验医学与临床,2011,8(18):2268-2269.

[6] 邓雪强.抗环瓜氨酸肽抗体和类风湿因子在类风湿关节炎中的意义[J]. 临床医学工程,2012,19(4):549-550.

[7] 王春丽.两种方法检测类风湿因子对类风湿关节炎的诊断价值[J]. 中国医药指南,2012,10(18):159-160.

[8] 孙亚红,苏加选.免疫比浊法在定量测定血清类风湿因子中的应用[J]. 中国基层医药,2012,19(2):282-283.