·论 著·

定量检测降钙素原的方法学评价

吴金斌,郑若洋,欧嘉文(北京大学深圳医院检验科,广东深圳 518036)

【摘要】 目的 评价酶联免疫荧光法与电化学发光法用以定量检测降钙素原(PCT)的分析性能,并探讨两种方法检测结果的相关性和一致性,为合理选择 PCT 的检测系统提供依据。**方法** 酶联免疫荧光法采用 mini VIDAS 全自动荧光免疫分析仪(简称 mini VIDAS),电化学发光法采用 Cobas E411 电化学发光分析仪(简称 Cobas E411)。测定相应配套低、高值质控品,计算日内和日间精密度;测定相应试剂非同批号的定值标准品观察偏倚程度,分析和比较两种方法检测结果的相关性和一致性。**结果** mini VIDAS 检测 PCT 低值和高值质控品的日内精密度分别为 2.02%、1.83%,日间精密度分别为 3.59%、3.09%;Cobas E411 检测的日内精密度分别为 1.30%、0.87%,日间精密度分别为 3.33%、3.06%。mini VIDAS 检测 PCT 低值和高值定值标准品的偏倚分别为 2.98%、−1.97%;Cobas E411 的偏倚分别为 5.26%、0.90%。两种方法的 PCT 检测结果比较差异有统计学意义($P<0.01$),但两者的相关性($r=0.993$)和一致性(Kappa=0.76)良好。**结论** 两种方法定量检测 PCT 的分析性能都能满足实验室要求,且具有良好的相关性和一致性,实验室可根据实际情况选择合适的检测系统。

【关键词】 降钙素原; 酶联免疫荧光法; 电化学发光法; 定量; 分析性能; 相关性; 一致性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.06.024 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2015)06-0780-03

Evaluation on methods for quantitative detection of procalcitonin *WU Jin-bin, ZHENG Ruo-yang, OU Jia-wen (Department of Clinical Laboratory, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong 518036, China)*

【Abstract】 Objective To evaluate the analytical performance of two methods of enzyme-linked immunoassay and electrochemiluminescene immunoassay for quantitatively detecting procalcitonin(PCT) and to explore the correlation and consistency of their test results in order to provide the basis for a reasonable choice of the PCT detection system. **Methods** The enzyme-linked immunoassay adopted the mini VIDAS automatic fluorescence immunoassay analyzer and the electrochemiluminescene immunoassay adopted the Cobas E411 electrochemiluminescene immunoassay analyzer. The corresponding matching low and high values of quality control materials were detected for calculating the intra-day precision and the inter-day precision; the non-same batch number of fixed value standard material in the corresponding reagent was determined for observing the bias degrees; the correlation and consistency of the detection results were analyzed and compared between the two kinds of method. **Results** The intra-day precisions of PCT in low and high values of quality control materials measured by the mini VIDAS fluorescence immunoassay analyzer were 2.02% and 1.83%, the inter-day precisions were 3.59%, and 3.09%, the biases were 2.98% and −1.97%; the intra-day precisions of PCT measured by the Cobas E411 ECL analyzer were 1.30% and 0.87%, the inter-day precisions were 3.33% and 3.06%, the biases were 5.26% and 0.90%. The detection results of PCT by the two methods had statistically significant differences ($P<0.01$), but there was good correlation ($r=0.993$) and good consistency (Kappa=0.76). **Conclusion** The analytical performance of two kinds of quantitative PCT detection method could meet the requirements of the laboratory with good correlation and good consistency. Laboratory could select proper detection system according to the actual situation.

【Key words】 procalcitonin; enzyme-linked fluorescent assay; electrochemiluminescence method; quantitative; performance analysis; correlation; consistency

降钙素原(PCT)是反映全身感染的一种重要炎性标志物,PCT 检测为临床感染性疾病的诊断、治疗和预后评估,以及抗菌药物的合理使用等方面提供了非常有意义的参考信息[1],该检测项目已被广泛应用于急诊检验中。目前,PCT 精确定量的检测方法主要有酶联免疫荧光法和电化学发光法。本研究参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP15-A2 和 EP9-A2 文件要求[2-3],对本院检验科两个 PCT 检测系统的精密度、准确度及检测结果的相关性和一致性进行比较和分析,为选择更合适的检测方法提供参考信息。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 309 份标本均来自于 2014 年 1～2 月本院门诊、急诊和住院患者,其中男 183 例,女 126 例;年龄 0～92 岁,平均(53±24)岁。所选研究对象包括各年龄段人群,且各年龄层均包含一定数量的男、女性研究对象,包含一定数量的健康人群及轻、中、重度炎症人群。剔除溶血、黄疸和脂血标本。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 酶联免疫荧光法采用生物梅里埃 mini VIDAS 全自动荧光免疫分析仪(以下简称 mini VIDAS)及其配套试剂、定标液与质控品(法国生物梅里埃股份有限公司),试剂批号 140904-0;电化学发光法采用罗氏 Cobas E411 电化学发光分析仪(以下简称 Cobas E411)及其配套试剂、定标液与质控品(德国罗氏诊断有限公司),试剂批号 173339-03。标准

作者简介:吴金斌,男,本科,副主任技师,主要从事医学检验研究。

品均溯源于德国 BRAHMS PCT LIA。严格按照仪器、试剂说明书和标准操作规程进行操作,每日在室内质控均在控的情况下采用两个检测系统平行检测标本,记录检测结果。

1.2.2 日内和日间精密度测定　日内精密度检测配套低值质控品 20 次,2 h 后再检测高值质控品 20 次,计算均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV),并与试剂说明书的相应标示值比较;日间精密度检测配套低、高值质控品每日 1 次,连续测定 20 d,计算 $\bar{x}$、s 和 CV,并与试剂说明书的相应标示值比较。

1.2.3 准确度验证　测定各检测系统不同批号的定值标准品(Mini VIDAS 定值标准品的批号为 130703,Cobas E411 定值标准品的批号为 173266),计算测定值与标准品定值的偏倚,由于目前在各规范性文件中尚未提及 PCT 的生物学变异和分析质量要求,本研究参考肿瘤标志物检测项目的验证标准设定 PCT 的可接受偏倚为小于±10%。

1.2.4 相关性分析　选取两组检测结果都在线性范围内的标本,以 Cobas E411 检测结果为 X,mini VIDAS 检测结果为 Y,进行相关性分析。

1.2.5 一致性分析　根据 PCT 测定浓度的不同,PCT 急诊临床应用专家共识中将 PCT 检测结果的判读分为 5 个级别:<0.05 ng/mL 为正常范围,0.05～0.50 ng/mL 为轻度全身炎性反应,0.51～2.00 ng/mL 为中度全身炎性反应,2.01～10.00 ng/mL 为可能为脓毒血症,>10.0 ng/mL 为严重脓毒血症,依据此分类标准将两组检测结果分别分成 5 组进行一致性比较。

1.3 统计学处理　采用 SPSS20.0 统计学软件进行数据处理与统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以百分率表示;两检测系统检测结果的相关性分析采用 Pearson 相关性分析;两检测系统检测结果的一致性分析采用 Kappa 检验,Kappa 值不低于 0.75 说明一致性较好。

2 结　果

2.1 两检测系统的日内和日间精密度测定结果　两个检测系统的日内、日间精密度均小于各自厂家说明书标示的相应接近浓度水平的 CV,与厂家声明相符合。见表 1～2。

表 1　两检测系统的日内精密度

项目	mini VIDAS 测定		mini VIDAS 标示		Cobas E411 测定		Cobas E411 标示	
	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)
低值	1.98±0.04	2.02	1.91±0.04	2.08	0.46±0.006	1.30	0.52±0.007	1.35
高值	19.65±0.36	1.83	24.35±0.47	1.93	9.32±0.081	0.87	10.2±0.096	0.94

表 2　两检测系统的日间精密度

项目	mini VIDAS 测定		mini VIDAS 标示		Cobas E411 测定		Cobas E411 标示	
	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)	($\bar{x}\pm s$,ng/mL)	CV(%)
低值	1.95±0.07	3.59	1.91±0.07	3.66	0.45±0.015	3.33	0.52±0.019	3.65
高值	19.41±0.60	3.09	24.35±0.87	3.57	9.25±0.283	3.06	10.2±0.404	3.96

2.2 两检测系统的准确度验证结果　mini VIDAS 检测 PCT 低值与高值的偏倚分别为 2.98%和－1.97%,Cobas E411 检测 PCT 低值与高值的偏倚分别为 5.26%和 0.90%,均小于±10%,两个检测系统的偏倚均在临床检验可接受范围内。见表 3。

表 3　两检测系统的准确度验证结果

项目	Mini VIDAS			Cobas E411		
	标定值(ng/mL)	测定值(ng/mL)	偏倚(%)	标定值(ng/mL)	测定值(ng/mL)	偏倚(%)
低值	4.03	4.15	2.98	0.095	0.105	5.26
高值	53.80	52.74	－1.97	52.40	52.87	0.90

2.3 两检测系统的相关性分析　mini VIDAS 检测线性范围为 0.05～200 ng/mL,Cobas E411 检测线性范围为 0.02～100 ng/mL,共 244 份标本的两组检测结果均在线性范围(0.05～100 ng/mL)内,两组检测结果比较差异有统计学意义($P<0.01$),但两组检测结果相关性良好($Y=0.875X-0.315$,$r=0.993$)。

2.4 两种检测方法的一致性分析　一致性分析显示,Kappa 值为 0.76(Kappa 值不低于 0.75),两检测系统检测结果的一致性较好。

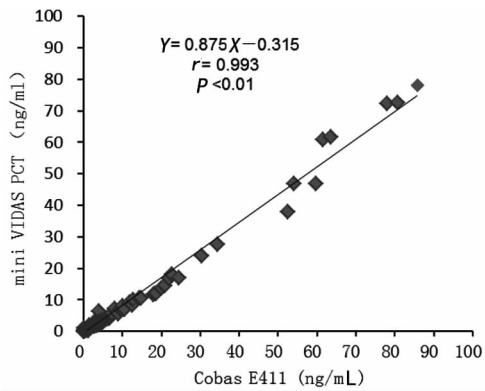

图 1　mini VIDAS 和 Cobas E411 检测结果的相关性分析

表 4　两检测系统的一致性分析

mini VIDAS (ng/mL)	Cobas E411(ng/mL)					合计
	<0.05	0.05～0.50	0.51～2.00	2.01～10.00	>10.00	
<0.05	21	37	0	0	0	58
0.05～0.50	0	118	1	0	0	119
0.51～2.00	0	3	50	0	0	53
2.01～10.00	0	0	10	37	0	47
>10.00	0	0	0	4	28	32
合计	21	158	61	41	28	309

3 讨　论

PCT 作为现阶段用于诊断感染和脓毒血症的较理想指标，越来越受到临床和医学检验的肯定和重视[4-5]，尤其在鉴别诊断发热患者是否存在感染，以及危重患者的体征监测中应用广泛[6]。严重的细菌感染会导致 PCT 一过性升高，其中细菌内毒素为关键的诱导因素；脓毒血症及多脏器衰竭同样会出现 PCT 一过性升高，但 PCT 水平通常低于伴有细菌性病灶的患者。此外，肠道释放的细胞因子或细菌移位可能诱导 PCT 水平的升高，其升高程度反映机体炎性反应的活跃程度，与患者的病情相关[7]。定量检测 PCT 有助于临床对感染性疾病的早期诊断，还可以为病情的判断提供更加准确的诊断信息[8-9]。

本研究两个检测系统测定 PCT 的原理不同。通过验证和分析比较显示，二者均具有较好的精密度和准确度，可满足实验室和临床的质量要求；两检测系统的检测结果具有较好的相关性（$r=0.993$，$P<0.01$）。采用相同的临界值（Cut off 值）对两组检测结果均在线性范围内的标本进行分组，一致性分析显示两检测系统的测定结果具有较好的一致性（Kappa 值为 0.76）。由于方法学原理的差异，两个系统的检测灵敏度和检测范围有所不同。Cobas E411 的最低检测限为 0.02 ng/mL，检测灵敏度略高于 mini VIDAS（0.05 ng/mL）；且 mini VIDAS 的检测范围（0.05～200 ng/mL）比 Cobas E411（0.02～100 ng/mL）更宽。但在试剂说明书中 mini VIDAS 标明其检测 PCT 的功能灵敏度为 0.09 ng/mL，大于 200 ng/mL 的标本可进行 10 倍稀释；Cobas E411 检测 PCT 的功能灵敏度为 0.06 ng/mL，大于 100 ng/mL 的标本可进行 4 倍稀释。因此，需要对两检测系统的功能灵敏度和最大稀释倍数或可报告范围作进一步的验证。

两检测仪器均使用了一次性加样吸头和独立的反应杯，因此均有效地避免了携带污染。在操作程序上，mini VIDAS 免疫荧光分析仪需人工加样，手动编号，标本仓中一次可同时加入 12 个标本测试条，单个样品检测时间为 20 min，适用于标本量不大的中小型实验室。Cobas E411 电化学发光分析仪可实现与实验室信息系统的双向通信，进行全自动检测，单个样品检测时间为 18 min，标本盘中有 30 个测试位，可在不停机的状态下连续加样检测，考虑到检测效率和高通量标本检测试剂成本相对较低等因素[10]，该仪器更适用于中心化实验室大标本量的检测。但是，就实验成本而言，电化学发光法的成本较高，其中自动化程度较高的方法因仪器故障出现的试剂浪费也是需要考虑的问题之一。

综上所述，两种检测系统均有较好的精密度和准确度，且相关性、一致性良好，临床实验室应根据自身的需求做相应的选择。

参考文献

[1] Viallon A，Guyomarch S，Marjollet O，et al. Can emergency physicians identify a high mortality subgroup of patients with sepsis：role of procalcitonin[J]. Eur Emerg Med，2008，15(1)：26-33.

[2] National Committee for Clinical laboratory Standants. User demonstration of performance for precision and accuracy EP15-A2[S]. Wayne，USA：NCCLS，2004.

[3] National Committee for Clinical laboratory Standants. EP9-A2：Method comparison and bias estimation using patient samples，approved guideline[M]. 2nd. Wayne：NCCLS，2002.

[4] 降钙素原急诊临床应用专家共识组. 降钙素原（PCT）急诊临床应用的专家共识[J]. 中华急诊医学杂志，2012，21(9)：944-948.

[5] 张涛，周虹. 降钙素原在急诊抗感染中的诊断意义[J]. 中华急诊医学杂志，2010，19(5)：556-558.

[6] 王涛，顾永辉，崔云亮，等. 应用降钙素原在诊断重症监护病房患者中菌血症的价值[J]. 中华急诊医学杂志，2014，23(4)：381-383.

[7] 吴兴华，杨进业. 急性脑炎脑膜炎症候群及其监测研究进展[J]. 中国公共卫生杂志，2012，28(11)：1537-5139.

[8] 王凯飞，沈定霞，刘朝军，等. 血清降钙素原定量检测与血培养结果的比较[J]. 中华检验医学杂志，2012，35(3)：243-246.

[9] 谢多双，符湘云，王惠芳，等. 中国医疗机构医院感染暴发应急现状调查[J]. 中国公共卫生杂志，2013，29(2)：191-194.

[10] 谢小蔓，林福秀，吴美宁. 院内感染患者医疗费用调查[J]. 中国公共卫生杂志，2013，29(9)：1397-1398.

（收稿日期：2014-08-22　修回日期：2014-11-22）

（上接第 779 页）

CEA 和 p16 四联检测在宫颈原发腺癌和子宫内膜癌诊断和鉴别中的应用[J]. 南方医科大学学报，2010，30(3)：526-529.

[2] 莫甲光，卢文生，黄家财. TCT 联合 HPV 及肿瘤标志物检测在宫颈癌中的意义[J]. 检验医学与临床，2012，9(10)：1213-1214.

[3] 熊艳，熊永炎. 原发性宫颈腺癌组织中 hr-HPV DNA 检测和 P16 蛋白的表达[J]. 武汉大学学报：医学版，2011，32(3)：365-368.

[4] 李富亮，杨菲斐，周敬敬，等. 免疫组化标记物在子宫内膜样腺癌与宫颈腺癌鉴别诊断中的表达及意义[J]. 中国肿瘤临床与康复，2014，21(1)：45-48.

[5] Hirschowitz L，Nucci M，Zaino RJ. Problematic issues in the staging of endometrial，cervical and vulval carcinomas[J]. Histopathology，2013，62(1)：176-202.

[6] 赵时梅，罗宇，任传伟，等. 子宫内膜样腺癌 MUC1 表达及其与 ER、PR 表达的相关性[J]. 临床与实验病理学杂志，2013，29(5)：497-501.

[7] Kim CH，Soslow RA，Park KJ，et al. Pathologic ultrastaging improves micrometastasis detection in sentinel lymph nodes during endometrial cancer staging[J]. Int J Gynecol Cancer，2013，23(5)：964-970.

[8] 傅亚均，曾雪影，王以容，等. 血清 3 项检测对子宫肌瘤合并子宫内膜癌患者的术前诊断价值[J]. 检验医学与临床，2014，11(6)：809-810.

[9] 杨兴杰，张杰，牛娜，等. SATB1 与 ER、PR 在子宫内膜样腺癌中的表达及临床意义[J]. 实用医学杂志，2012，28(6)：948-950.

[10] 胡春芳，张秀琴，王静，等. 宫颈腺癌发生相关蛋白的蛋白质组学初步研究[J]. 现代生物医学进展，2013，13(28)：5467-5471.

（收稿日期：2014-09-12　修回日期：2014-12-18）