

• 论 著 •

免疫比浊法测定的胱抑素 C 试剂盒性能验证和评价*

朱 薇, 王 静, 王丽娜, 乔正梅

(陕西省宝鸡市中心医院检验科 721008)

摘要:目的 对使用免疫比浊法测定的胱抑素 C(Cys-C)试剂盒进行实验室验证和评价,以确定该试剂盒分析性能的可靠性,评价其是否符合临床应用需要。方法 根据美国临床实验室标准协会颁布的《临床化学设备操作精密度评价核准指南》、《定量分析方法的线性核准指南》、《临床化学干扰试验核准指南》要求,分别对使用免疫比浊法 Cys-C 试剂盒的准确度、精密度、线性范围、抗干扰物质进行试验。结果 准确度测量:高水平质量控制偏差为 2.76,低水平质量控制偏差为 0.42,偏差 $<10\%$ 。精密度测量标准差为 0.32,变异系数为 0.45%,偏差 $<5\%$ 。线性范围:在理论水平 0~200 范围内,相关系数 $Y=0.9917X+0.4681$, $r^2=1$ 呈线性关系。干扰物质血红蛋白测量值最高 105.5 mg/L,最低 102.5 mg/L;胆红素测量值最高 104.0 mg/L,最低 41.0 mg/L;抗坏血酸测量值最高 104.0 mg/L,最低 86.0 mg/L;未对试验产生干扰。结论 该试验使用的 Cys-C 检测试剂盒在准确度、精密度、线性范围、抗干扰物质试验等方面分析性能可靠,能满足临床应用需要和保证课题数据准确性的要求。

关键词:胱抑素 C; 准确度; 精密度; 线性范围; 抗干扰物质

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.20.001 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)20-2975-03

Performance validation and evaluation of immunoturbidimetric assay for determination of cystatin C reagent*

ZHU Wei, WANG Jing, WANG Lina, QIAO Zhengmei

(Department of Clinical Laboratory, Baoji Municipal Central Hospital, Baoji, Shaanxi 721008, China)

Abstract: **Objective** To conduct the laboratory validation and evaluation on cystatin C(Cys-C) reagent kit by using the immunoturbidimetry assay to determine the reliability of this reagent kit analytical performance and to evaluate whether, guaranteeing the project data accuracy. **Methods** The accuracy, precision, linearity and anti-interference materials of the Cys-C reagent kit(immunoturbidimetry) were detected according to the standard requirements of EP5-A, EP6-A and EP7-A promulgated by CLSI. **Results** The high level of quality control deviation in the accuracy measurement was 2.76 and which of the low level was 0.42, deviation $<10\%$; the precision measurement standard deviation was 0.32, the variation coefficient was 0.45%, deviation $<5\%$; the linear range was within the theoretical range of 0~200, the correlation coefficient $Y=0.9917X+0.4681$, $r^2=1$ showing a linear relationship; the highest detection value of interfering substance hemoglobin was 105.5 mg/L, the lowest detection value was 102.5 mg/L; the highest detection value of bilirubin was 82.0 mg/L, the lowest detection value was 41.0 mg/L; the highest detection value of ascorbic acid was 104.0 mg/L, the lowest detection value was 86.0 mg/L, which generated no interference on the test. **Conclusion** The Cys-C reagent kit produced by Beijing Jiuqiang Company is reliable in the aspects of accuracy, precision, linearity and anti-interference material test, can meet the needs of clinical application and guarantee the requirements of project data accuracy.

Key words: Cys-C; accuracy; precision; linear range; anti-interference material

胱抑素 C(Cys-C)是目前基本满足理想内源性肾小球滤过率标志物要求的内源性物质,是新近发展起来的评估肾功能的一种敏感度好、特异性高的指标^[1]。目前实验室采用胶乳免疫比浊法的测定 Cys-C 试剂盒,是根据标本中的 Cys-C 与超敏化的抗 Cys-C 抗体胶乳颗粒试剂反应形成免疫复合物,在 570 nm 波长处检测其吸光度的变化,其变化程度与标本中的 Cys-C 水平呈正比。为了更好地了解该 Cys-C 测定试剂盒的分析性能,根据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)颁布的《临床化学设备操作精密度评价核准指南》(EP5-A)、《定量分析方法的线性核准指南》(EP6-A)、《临床化学干扰试验核准指南》(EP7-A)^[2]检测,对北京九强公司生产的免疫比浊法 Cys-C 测定试剂盒分别进行了准确度、精密度、线性范围、抗干扰物质检测,以验证该试剂盒性能是否符合临床诊疗需要,满足课题要

求,提供准确的分析数据,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料来源 本院就诊的住院、门诊患者留取的混合血清和高、低值质量控制血清。

1.2 仪器与试剂 日本 Olympus AU-2700 全自动生化分析仪。Cys-C 检测试剂盒(北京九强公司生产,批号:15-1223); Cys-C 试剂配套校准品(批号:16-012),水平 0~10 mg/L,溯源至国家标准物质 GBW(E)090437;质量控制血清(批号:16-012)水平 1:0.5~1.0 mg/L;水平 3:3.0~5.0 mg/L;检验科混合血清;血红蛋白(原始水平 10 000 mg/L);胆红素(原始水平:5 000 mg/L);三酰甘油(原始水平:20 000 mg/L);抗坏血酸(原始水平:4 000 mg/L)。

1.3 方法

* 基金项目:国家高技术研究发展 863 课题子课题资助项目(2014AA022304)。

作者简介:朱薇,女,副主任技师,主要从事生化免疫方面的研究。

1.3.1 准确度测量 取质量控制血清高、低值分别测定 3 次, 计算其偏差值, 准确性偏差应 $\leq 10\%$ 。

1.3.2 精密度测量 将检验科留取混合血清重复检测 10 次, 测定结果的变异系数(CV) $\leq 5\%$ 。

1.3.3 线性范围 留取高值标本, 要求线性范围 0.1~8.0 mg/L, 按照水平 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 倍比稀释, 重复测定 3 次, 取平均值, 制作线性曲线, 线性相关系数 $r \geq 0.99$ 。

1.3.4 干扰物试验 以混合血清为基质, 按照一定体积添加血红蛋白、三酰甘油、胆红素、抗坏血酸等, 分别测定标本值, 分析测量添加干扰物后产生的偏差, 需符合试剂方法局限性要求。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行相关系数和回归方程的计算。

2 结 果

2.1 准确度测量 质量控制血清低值和高值分别测定 3 次, 其均值分别为 29.58 和 137.24, 靶值分别为 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 和 140.0 $\mu\text{mol/L}$, 二者偏差为 0.42 和 2.76, 准确性偏差 $< 10\%$ 。

表 1 不同水平血红蛋白干扰物测定结果比较

水平(mg/L)	测量均值(mg/L)	偏差(%)	期望值(mg/L)
600.0	104.0	0.00	104.0
500.0	103.5	0.05	104.0
400.0	105.5	0.15	104.0
300.0	104.0	0.00	104.0
200.0	102.5	0.15	104.0
0.0	104.0	0.00	104.0

表 2 不同水平三酰甘油干扰物测定结果比较

水平(mg/L)	测量均值(mg/L)	偏差(%)	期望值(mg/L)
2 000.0	102.0	0.20	104.0
1 600.0	109.0	0.50	104.0
1 200.0	97.0	0.70	104.0
800.0	101.0	0.30	104.0
400.0	101.0	0.30	104.0
0.0	104.0	0.00	104.0

表 3 不同水平胆红素干扰物测定结果比较

水平(mg/L)	测量均值(mg/L)	偏差(%)	期望值(mg/L)
25.0	41.0	6.30	104.0
20.0	48.0	5.60	104.0
15.0	57.0	4.70	104.0
10.0	66.0	3.80	104.0
5.0	82.0	2.20	104.0
0.0	104.0	0.00	104.0

2.2 精密度测量 取混合血清重复测量 10 次, 测量的均值为 83.41, 标准差为 0.32, CV 为 0.45%, 偏差 $< 5\%$ 。

2.3 线性范围 取高值血清标本按照 1:2, 1:4, 1:8, 1:

16 倍比稀释, 得到 12.187、24.375、48.750、97.500、195.000 水平值, 分别将不同比例标本各测量 3 次, 取均值分别为 12.400、25.000、49.100、96.400、194.133, 相对偏差分别为 -1.25% 、 1.44% 、 0.58% 、 -0.79% 、 0.15% , 计算回归方程: $Y = 0.9917X + 0.4681$, $r^2 = 1$ 呈线性关系。

2.4 不同水平干扰物试验比较 在患者混合血清中分别加入不同水平血红蛋白、三酰甘油、胆红素、抗坏血酸干扰物, 测定结果偏差最大 6.30%, 最低 0.00%, 正负偏差均 $< 10\%$ 。见表 1~4。

表 4 不同水平抗坏血酸干扰物测定结果比较

水平(mg/L)	测量均值(mg/L)	偏差(%)	期望值(mg/L)
50.0	86.0	1.80	104.0
40.0	88.0	1.60	104.0
30.0	95.0	0.90	104.0
20.0	94.0	1.00	104.0
10.0	97.0	0.70	104.0
0.0	104.0	0.00	104.0

3 讨 论

临床检验结果的质量直接关系到患者的诊断、治疗和预后。根据《医疗机构临床实验室管理办法》第三十条“临床检验项目比对有困难时, 医疗机构临床实验室应当对方法学进行评价, 包括准确性、精密度、特异性、线性范围、稳定性、抗干扰性、参考范围等, 并有质量保证措施”^[2-5]。笔者根据 CLSI 颁布的 EP5-A、EP6-A、EP7-A 分别对北京九强公司生产的免疫比浊法 Cys-C 测定试剂盒进行准确性、精密度、线性范围、抗干扰能力的试验^[6-8]。

本试验准确性测量的高值和低值与靶值偏差为 0.42 和 2.76, 偏差 $< 10\%$, 符合准确性要求。精密度测试要求重复性测定值 $CV < 5\%$, 不同试剂盒批间差(R) $< 10\%$ 。本试验结果表明, Cys-C 试剂盒重复性测量均值为 83.41, 标准差为 0.32, CV 为 0.45%, 偏差 $< 5\%$, 可以满足临床检测的需要。线性范围在 0.1~8.0 mg/L 测定的线性偏差应 $< 10\%$, $r \geq 0.99$ 。试验按照方法要求倍比稀释分别得到 12.187、24.375、48.750、97.500、195.000 理论水平, 各测定 3 次排除离群值, 分别取均值为 12.400、25.000、49.100、96.400、194.130, 相对偏差分别为 -1.25% 、 1.44% 、 0.58% 、 -0.79% 、 0.15% , 相关方程 $Y = 0.9917X + 0.4681$, $r^2 = 1$ 呈线性关系, 符合直线回归方程 $r \geq 0.99$ 的要求。抗干扰试验选择了 4 种常见干扰物, 结果显示: 血红蛋白测量值最高 105.5 mg/L, 最低 102.5 mg/L; 胆红素测量值最高 104.0 mg/L, 最低 41.0 mg/L; 抗坏血酸测量值最高 104.0 mg/L, 最低 86.0 mg/L, 符合 Cys-C 测定试剂盒检验方法局限性要求指标, 均未对试验产生干扰。

综上所述, 通过对北京九强公司生产的胶乳免疫比浊法 Cys-C 测定试剂盒准确性、精密度、线性范围、抗干扰能力的性能评价, 显示各项分析性能参数符合临床和实验室的相关要求, 可用于临床的常规检测和课题数据的相关分析。开展试验项目的性能验证工作, 不仅可以保证其分析性能达到实验室认可的目标, 使检验结果更加可靠, 同时达到了持续性质量改进的目的, 可以更好地服务于临床^[9-11]。(下转第 2979 页)

过-80℃冰箱的保存,是否对细菌生物膜形成造成影响还不清楚。

近年来由生物膜导致的感染逐渐增加,据报告,美国大型医院里有超过 65% 的感染与生物膜相关,导致的治疗花费每年超过 10 亿美元^[7]。我国医院 MRSA 生物膜相关感染率也在逐渐升高,如何有效治疗由生物膜引起的相关感染已成为临床亟待解决的问题。茶多酚是茶叶中常见的多酚类物质,广泛存在于自然界,易提取;且在 1997 年被列为中成药原料,1989 年被中国食品添加剂协会列入 GB2760-89 食品添加剂^[8]。本次研究发现茶多酚有较强的抗 MRSA 作用,表明可以进一步研究其作为治疗多重耐药菌的物质,这与钱丽红等^[9]的研究成果类似。

本次研究发现单独使用茶多酚作用于生物膜时,其对生物膜消除作用并不明显,值得注意的是,1/2 MIC 水平茶多酚作用后生物膜甚至增加,多次重复试验发现不同水平茶多酚对生物膜影响不同,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。单独使用万古霉素对生物膜有一定的消除作用,但是茶多酚联合万古霉素作用于生物膜的时候,万古霉素对生物膜的消除作用降低,随着茶多酚水平的增加,甚至会促进生物膜的形成。这一现象产生的原因并不清楚,可能是茶多酚与万古霉素相互拮抗所致,还需要进一步研究。本试验与李新军等^[10]报道的茶多酚会降低生物膜形成结果不同,主要原因是上述研究采用的菌株为肠球菌,其与金黄色葡萄球菌的生物膜主要成分不同。

MRSA 对多种抗菌药物耐药,且生物膜形成能力较强,医疗工作者及科研人员正在努力寻找各种药物或物质来预防和治疗该菌株的感染。目前许多科研人员关注从自然界中发现抗菌物质,本次研究表明虽然物质有较强的抗菌活性,但还应该关注其对菌株生物膜形成的影响,另外提示临床治疗 MRSA 菌株引起的生物膜相关感染时应注意含有茶多酚的物质对药物治疗的影响。

参考文献

[1] Montanaro L, Testoni F, Poggi A, et al. Emerging pathogenetic mechanisms of the implant-related osteomyelitis

(上接第 2976 页)

参考文献

[1] 张立娟,孙树荣,武佳蕾.血清胱抑素 C 在老年性急性肾损伤患者中早期诊断价值的研究[J]. 检验医学与临床, 2016,13(9):1158-1160.
 [2] 周睿,王清涛.医学试验室认可中关于方法学性能验证的高频问题及应对[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(12): 885-887.
 [3] 何国坚,肖庆,韦庆文.电化学发光免疫分析法检测维生素 D 试剂盒性能验证[J]. 中国医药指南, 2014, 12(23): 76-77.
 [4] 徐丽萍. C 反应蛋白试剂性能验证的试验研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(22): 3061-3062.
 [5] 王卫才. 乙肝表面抗原酶联免疫试剂性能验证[J]. 国外医学医学地理分册, 2015, 36(3): 227-229.
 [6] 黄回滨,张洋,王欣欣,等. 液态酶法糖化血清蛋白试剂性能评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(11): 1149-

by Staphylococcus aureus[J]. Int J Artif Organs, 2011, 34(9): 781-788.
 [2] 陈衍,俞云松. 加强我国社区相关性耐甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌等研究[J]. 中华临床感染病杂志, 2016, 9(4): 294-298.
 [3] Tan SY, Chew SC, Tan SY, et al. Emerging frontiers in detection and control of bacterial biofilms[J]. Curr Opin Biotechnol, 2014, 26(2): 1-6.
 [4] 王丽,许奇,徐顺,等. 茶多酚对微生物生长影响对研究进展[J]. 现代食品科技, 2013, 29(7): 1737-1741.
 [5] Fuente-Nunez LC, Korolik V, Brains M, et al. Inhibition of bacterial biofilm formation and swarming motility by a small synthetic cationic peptide[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56(5): 2696-2704.
 [6] Rahimi F, Katouli M, Karimi S. Biofilm production among methicillin resistant Staphylococcus aureus strains isolated from catheterized patients with urinary infection[J]. Microb Pathol, 2016, 98: 69-76.
 [7] Price BL, Lovering AM, Bowling FL, et al. Development of a novel collagen wound model to simulate the activity and distribution of antimicrobials in soft tissue during diabetic foot infection[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(11): 6880-6889.
 [8] 中国质检出版社. 食品安全国家标准食品添加剂使用标准: GB 2760-2011[M]. 北京: 中国质检出版社, 2011: 7-8.
 [9] 钱丽红,陶妍,谢晶. 茶多酚对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑菌机理[J]. 微生物学通报, 2010, 37(11): 1628-1633.
 [10] 李新军,郭晓丽,孙应明,等. 茶多酚、MTAD 和次氯酸钠液抑制粪肠球菌及其生物膜的作用比较[J]. 牙体牙髓牙周学杂志 2011, 17(3): 2112-2116.

(收稿日期:2017-02-24 修回日期:2017-05-02)

1155.
 [7] 高玲娟,陈晨. 25-羟基维生素 D 检测试剂盒的性能验证[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(21): 3640-3642.
 [8] 陈芳芳,李家亮,王国洪. BECKMAN Dxl 800 全自动化学发光仪甲状腺检测项目的性能验证[J]. 东南国防医药, 2013, 15(6): 585-587.
 [9] 朱薇,王丽娜,王静,等. 同型半胱氨酸检测试剂与厂家声明一致性验证[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(1): 41-42.
 [10] 曹云友,姜玉禄. 胱抑素 C 与其他标志物对早期糖尿病肾病中的诊断效能[J]. 现代预防医学, 2015, 42(14): 2669-2671.
 [11] 于利萍,石正洪. 血清胱抑素 C 水平在缺血性卒中患者急性期及其亚型中的变化和意义[J]. 中国脑血管病杂志, 2016, 13(4): 191-197.

(收稿日期:2017-02-29 修回日期:2017-05-08)