

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.06.007

M16 磁敏免疫分析仪检测性能评价*

陈应婷^{1,2}, 胡红艳^{1,2}, 李 远^{1,2△}

(1. 重庆医科大学附属永川医院微流控芯片技术与临床应用研究室, 重庆 402160;

2. 重庆市医学检验微流控及 SPRi 工程技术研究中心, 重庆 400016)

摘要:目的 对 M16 磁敏免疫分析仪的检测性能进行评价。方法 选择 2018 年 5 月在重庆医科大学附属永川医院就诊的门诊和住院患者静脉肝素抗凝血液标本 30 份, 采用心肌肌钙蛋白 I (cTnI)、肌红蛋白 (Myo)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB) (磁敏免疫法) 检测试剂盒, 通过定值质控品对 M16 磁敏免疫分析仪的精密性、线性性能和正确度进行评价, 同时采用 Roche Cobas E602 全自动电化学发光检测仪测定 Myo、CK-MB 水平, 进行相关性分析。结果 M16 磁敏免疫分析仪精密性变异系数 (CV) $\leq 15\%$, cTnI、Myo、CK-MB 的线性相关系数 $r \geq 0.99$, 测定相对偏倚 $\leq 15\%$, 均符合仪器厂商的声明性能; 测定结果和电化学发光法检测结果间具有良好的相关性, Myo 和 CK-MB 的 R^2 分别为 0.984 和 0.986。结论 作为第 3 代 POCT 产品, M16 磁敏免疫分析仪可为临床医师提供快速、准确、可靠的临床决策支持。

关键词:磁敏免疫法; 即时检验; 心肌梗死; 标志物

中图分类号: R446.61

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)06-0742-04

Performance evaluation of M16 Magnetic Sensitive Immunoanalyzer*

CHEN Yingting^{1,2}, HU Hongyan^{1,2}, LI Yuan^{1,2△}

(1. Microfluidic Technology and Clinical Application Laboratory, Yongchuan Hospital

Affiliated of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 2. Microfluidic and SPRi

Engineering Technology Research Center for Medical Diagnosis of Chongqing, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of M16 Magnetic Sensitive Immunoanalyzer.

Methods Using the detection reagent kit of troponin I (cTnI), myoglobin (Myo) and creatine kinase isoenzyme (CK-MB) (magnetoimmunity method), the precision, linear performance and trueness of M16 Magnetic Sensitive Immunoanalyzer were evaluated. Concentrations of Myo, CK-MB in thirty heparin anticoagulation blood samples, which collected from outpatients and inpatients in Yongchuan Hospital, Chongqing Medical University in May 2018, were detected by M16 Magnetic Sensitive Immunoanalyzer and Roche Cobas E602 automatic electrochemical luminescence detector simultaneously. The two results were conducted correlation analysis. **Results** The coefficient of variation (CV) for precision of M16 Magnetic Sensitive Immunoanalyzer was lower than 15%. Linearly dependent coefficients of cTnI, Myo and CK-MB were all greater than 0.99. Measurement relative bias for trueness was less than 15%. These performance parameters were comply with the manufacturer's stated performance. Myo and CK-MB results obtained by M16 Magnetic Sensitive Immunoanalyzer and electrochemical luminescence detector had better correlation, and R^2 equal to 0.984 and 0.986 respectively. **Conclusion** M16 Magnetic Sensitive Immunoanalyzer, as a typical third generation POCT, can provide fast, accurate and reliable decision support for clinicians.

Key words: magnetic sensitive immunoassay; POCT; myocardial infarction; biomarkers

近年来, 在环境、政策、市场和技术等多因素刺激下, 即时检验 (POCT) 在中国发展迅速, 临床 POCT 产品发展先后经历了第 1 代定性测试 (试纸条) 和第 2 代半定量 (比色卡或半定量读数仪), 到现阶段的第 3 代全定量 (手工), 并即将进入第 4 代的智慧 POCT (精准化、自动化和云端化)^[1]。POCT 技术发展

正强有力地改变着当前医疗模式, 营造出一个学术和产业的强风口。尽管 POCT 产品技术发展迅速, 但其检测性能仍是用户关注的核心问题之一^[2]。M16 磁敏免疫分析仪是一款基于巨磁电阻生物传感器的 POCT 产品, 检测原理是基于磁颗粒标记的双抗体夹心免疫反应, 通过磁敏传感器对磁信号的检测实现对

* 基金项目: 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项 (cstc2017shmsA130009)。

作者简介: 陈应婷, 女, 技师, 主要从事 POCT 验证及临床输血方面的研究。△ 通信作者, E-mail: liyuan_1985999@163.com。

待测抗原含量的测定。由于生物基质一般不含磁性物质,因此相比胶体金、荧光等标记方法,磁敏检测方法不受样品中杂质和背景信号的干扰,具有灵敏度高的优势^[3]。此外,M16 磁敏免疫分析系统检测卡采用了主动式微流控芯片技术,可对血液样品和反应试剂进行精确控制,减少人为操作误差,克服侧向流层析技术批间差异大的缺陷,最大限度地提高测试可重复性。M16 磁敏免疫分析仪作为一款最具典型特性的第 3 代全定量 POCT 产品,关于其检测性能评价的文献报道较少。为验证其检测性能,本文将以前心肌梗死标志物心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、肌红蛋白(Myo)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)测试为例,参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)和行业标准《WS/T 492-2016 临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证》制定的仪器性能验证标准对其检测方法学性能可靠性进行验证,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 5 月在重庆医科大学附属永川医院就诊的门诊和住院患者静脉外周血 30 份,肝素抗凝,3 000 r/min 离心 5 min,收集上层血浆进行检测。样品采集至检测前室温放置不超过 2 h,2~8 ℃放置不超过 24 h。

1.2 仪器与试剂 M16 磁敏免疫分析仪及其配套的 cTnI、Myo、CK-MB 检测试剂盒、质控液(深圳市理邦精密仪器有限公司生产)。罗氏 Roche Cobas E602 全自动电化学发光分析检测仪及其配套的检测试剂。

1.3 方法

1.3.1 精密度试验 选择高、低值质控品,按照仪器和检测试剂盒提供的标准方法重复测试 20 次,将 20 次测定结果进行统计分析,计算 cTnI、Myo、CK-MB 的变异系数(CV)。

1.3.2 线性分析试验 分别选取 cTnI、Myo 和 CK-MB 临床高值的肝素抗凝血样品,用生理盐水进行 5%、10%、20%、40%、60%、80% 和 100% 稀释,将稀释样品从低浓度到高浓度进行测定,计算测定值和理论值两者间的相关系数(*r*)。

1.3.3 正确度评估实验^[4] 取试剂盒配套的高、低值质控品重复测定 10 次,计算平均值、标准差、95% 置信区间和相对偏倚。以质控液使用说明书标注浓度为验证指定值和靶值,相对偏倚计算公式:(测定均

值-靶值)/靶值×100%。同时以指定值和相对偏倚验证仪器测试的正确度。

1.3.4 对比试验 选择临床外周抗凝血液样品 30 份,分别用 M16 磁敏免疫分析仪和罗氏 Roche Cobas E602 全自动电化学发光分析检测仪进行测定,将结果进行直线回归分析及相关分析。

1.4 判断标准 根据仪器厂商声明的判断标准对仪器的检测性能进行评价。

1.5 统计学处理 应用统计学软件 SPSS13.0 进行统计分析,对比试验采用直线回归分析及相关分析。

2 结果

2.1 M16 磁敏免疫分析仪的精密度检测结果 cTnI、Myo 和 CK-MB 测试精密度通过高、低值质控品重复测试后统计而出,高值质控品 CV 小于低值质控品 CV,3 个检测指标均小于厂商声明的判断标准,符合要求。见表 1。

表 1 M16 磁敏免疫分析仪检测 cTnI、Myo、CK-MB 精密度结果(*n*=20)

项目	精密度 CV(%)		判断标准	结论
	高值	低值		
cTnI	6.98	8.62	CV≤15%	合格
Myo	11.57	12.26	CV≤15%	合格
CK-MB	9.14	9.87	CV≤15%	合格

2.2 M16 磁敏免疫分析仪的线性范围检测结果 结果显示在仪器厂商声明的测试范围内,cTnI、Myo、CK-MB 的相关系数 *r* 均优于判断标准,符合要求。见表 2。

表 2 线性范围试验结果

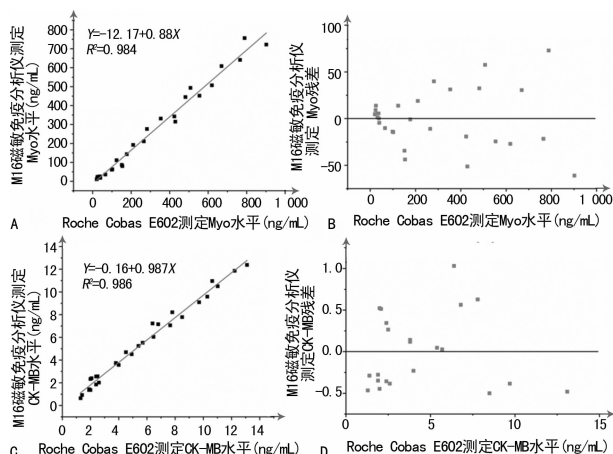
项目	测试范围	相关系数 <i>r</i>	仪器标注范围	判断标准	结论
cTnI	2.93~58.60 ng/mL	0.993	0.02~50.00 ng/mL	<i>r</i> ≥0.99	合格
Myo	29.70~594.50 ng/mL	0.991	5.00~500.00 ng/mL	<i>r</i> ≥0.99	合格
CK-MB	2.60~51.10 ng/mL	0.994	0.50~100.00 ng/mL	<i>r</i> ≥0.99	合格

2.3 M16 磁敏免疫分析仪的正确度评价结果 仪器正确度测试结果如表 3 所示,可知 M16 磁敏免疫分析仪测试的 cTnI、Myo、CK-MB 参考物质指定值均包含在测试结果 95% 置信区间内,且相对偏倚均低于 15%,其检测的准确性符合厂商声明标准。见表 3。

表 3 M16 磁敏免疫分析仪准确度测试结果

项目	95% 置信区间(相对偏倚)		判断标准 (相对偏倚)	结论
	高值	低值		
cTnI	10.2~10.8 ng/mL(-4.8%)	0.52~0.63 ng/mL(8.1%)	≤15%	合格
Myo	138.5~150.4 ng/mL(7.4%)	51.6~58.2 ng/mL(-9.7%)	≤15%	合格
CK-MB	20.7~22.4 ng/mL(6.6%)	4.6~5.7 ng/mL(-8.1%)	≤15%	合格

2.4 对比试验 由于 Roche Cobas E602 全自动电化学发光分析检测仪检测指标为 Myo、CK-MB, 因此本研究仅采用了 Myo、CK-MB 进行对比分析。M16 磁敏免疫分析仪和 Roche Cobas E602 电化学发光检测仪分别测定 30 份临床样品结果对比见图 1。图 1A 和图 1C 显示两种方法测量的结果相关性良好, 其中, Myo 的 $R^2=0.984$; CK-MB 的 $R^2=0.986$ 。残差图波动范围稳定, 说明残差方差齐性, 线性拟合结果可靠, 见图 1B 和图 1D。



注: A 为 Myo 线性拟合曲线; B 为 Myo 残差图; C 为 CK-MB 线性拟合曲线; D 为 CK-MB 残差图

图 1 M16 磁敏免疫分析仪和 Roche Cobas E602 电化学发光检测仪测定 Myo 和 CK-MB 的相关性分析

3 讨论

临床 POCT 产品的检测性能直接关系到患者的诊断、治疗和预后, 因此 POCT 产品进入临床前必须对其检测性能进行评估^[5]。笔者实验室自行设计试验, 对第 3 代全定量 POCT 产品——M16 磁敏免疫分析仪的检测性能进行独立评价。为验证仪器的检测性能, 本研究以 cTnI、Myo、CK-MB 心肌梗死标志物测试为例进行评价。精密度试验显示, cTnI、Myo、CK-MB 的 $CV \leq 15\%$, 均在仪器厂商声明的测试范围内, 3 种指标的测量值和理论值密切相关, 相关系数 $r \geq 0.99$; 正确度评估试验显示质控液指定值均在 cTnI、Myo、CK-MB 检测结果的 95% 置信区间内, 且相对偏倚 $\leq 15\%$, 结果均符合仪器厂商的声明性能。同时, M16 磁敏免疫分析仪检测性能指标均优于其他文献报道第 2 代心肌梗死标志物检测 POCT^[6-8]。在心肌梗死蛋白标志物临床检测中, 电化学发光法被认为是检测“金标准”^[9]。本研究对 30 份临床患者外周血液标本的 Myo、CK-MB 浓度分别进行 M16 磁敏免疫分析仪和 Roche Cobas E602 电化学发光检测仪测定, 结果显示两者结果间具有良好的相关性, 且相关性性能优于文献^[6-8]报道的第 2 代 POCT 产品。

人血浆中 cTnI、Myo、CK-MB 蛋白水平测量在床上已广泛用于心肌梗死辅助诊断^[10-11]。相比中心

实验室检测(如全自动化学发光检测仪), POCT 产品应用直接缩短样品周转周期(TAT), 极大地提高心肌梗死的临床诊断效率和急救成功率^[12]。目前, 市场上 cTnI、Myo、CK-MB 检测 POCT 产品主要基于侧向流层析技术, 结合荧光、胶体金标记和读数仪系统实现对蛋白标志物水平的定性或半定量检测^[13-14]。尽管基于侧向流层析技术的 POCT 产品价格便宜、操作简单且应用广泛, 但存在重复性差(CV 为 $20\% \sim 40\%$)、缺少精确量的多项检测能力和自动化的文件编制^[15]。M16 磁敏免疫分析仪是一款基于巨磁电阻生物传感器的临床 POCT 分析装置。其检测原理采用双抗体夹心免疫反应, 其检测主要流程如下: 首先将检测一抗包被在传感芯片上, 进行检测一抗一待测抗原一表位二抗的夹心反应。表位二抗上连接有生物素标记物, 能够通过链霉亲和素/生物素体系将修饰有链霉亲和素的磁颗粒固定在传感芯片上, 进而通过 GMP 传感器对芯片上的磁信号检测实现对样品中待测抗原水平的定量测定。此外, 为方便临床进行 POCT 和提高检测精确度, 检测试剂盒采用检测卡样式, 通过集成微通道、阀和泵完成对免疫夹心反应的全自动控制, 减少人为操作误差, 克服侧向流层析技术的批间差异大的缺陷, 最大程度上提高测试可重复性。兼具全定量巨磁电阻生物传感器阵列和主动式微流控芯片技术赋予了 M16 磁敏免疫分析仪第 3 代全定量 POCT 的典型特征。

综上所述, 本文以 cTnI、Myo、CK-MB 心肌损伤蛋白标志物测定为例, 对 M16 磁敏免疫分析仪的精密度、线性和正确度进行评价, 结果与厂商声明的性能参数相符; 通过对比试验证实了其测定结果与中心实验室检测结果间具有较好的一致性。此外, M16 磁敏免疫分析仪总体设计新颖合理, 操作简便, 质量控制方式完善, 测量速度快(15 min), 溯源性好, 是一款值得临床推广使用的第 3 代全定量 POCT 产品。产品不足之处在于检测成本相比第 1 代和第 2 代 POCT 产品的检测成本高, 如何让医疗机构和患者接受存在一定程度的挑战。同时, 在产品精密度、加样自动化和数据云端化应用等方面还存有一定提升空间。

参考文献

- [1] 李新军, 王成彬. POCT 技术的现状与发展前景[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2015, 4(2): 844-849.
- [2] 曹俐, 颜敏, 黄海萍. 即时检测(POCT)发展现状和存在问题探讨[J]. 中国药事, 2016, 30(6): 556-559.
- [3] 张红燕, 王莉清, 王清江, 等. 基于巨磁电阻效应的生物磁敏传感器技术[J]. 化学传感器, 2008, 28(1): 3-7.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证: WS/T 492-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. (下转第 748 页)

参考文献

- [1] MARTELLI M, FERRERI A J, AGOSLINELLI C, et al. Diffuse large B-cell lymphoma[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2013, 87(2):146-171.
- [2] 李小秋, 李甘地, 高子芬, 等. 中国淋巴瘤亚型分布: 国内多中心性病例 10 002 例分析[J]. 诊断学理论与实践, 2012, 11(2):111-115.
- [3] LOSSOS I S, MORGENZSTERN D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(6):995-1007.
- [4] 中华医学会血液学分会. 中国弥漫大 B 细胞淋巴瘤诊断与治疗指南[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(10):724-726.
- [5] O'CONNOR O A, CZUCZMAN M S. Novel approaches for the treatment of NHL: proteasome inhibition and immune modulation[J]. Leuk Lymphoma, 2008, 49(Suppl 1):59-66.
- [6] MOEHLER T. Clinical experience with Thalidomide and lenalidomide in multiple myeloma[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2012, 12(4):372-390.
- [7] 黄春晖. 沙利度胺联合 CHOP 方案治疗弥漫大 B 细胞淋巴瘤临床研究[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, 10(5):741-743.
- [8] 杨英姿. CHOPE 方案单用或与沙利度胺联合治疗复发难治性非霍奇金淋巴瘤疗效的比较[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(1):84-88.
- [9] IVANOV I I, MCKENZIE B S, ZHOU L, et al. The orphan nuclear receptor ROR gamma t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17(+) T helper cells[J]. Cell, 2006, 126(6):1121-1133.
- [10] VELDHONEN M, HOCKING R J, ATKINS C J, et al. TGF beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells[J]. Immunity, 2006, 24(2):179-189.
- [11] CARRIER Y, GAO W, KORN T, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells[J]. Nature (London), 2006, 441(7090):235-238.
- [12] MANGAN P R, HARRINGTON L E, O'QUINN D B, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage[J]. Nature, 2006, 441(790):231-234.
- [13] OUYANG W, KOLLS J K, ZHENG Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation[J]. Immunity, 2008, 28(4):454-467.
- [14] YANG Z Z. Malignant B cells skew the balance of regulatory T cells and TH17 cells in B-cell non-Hodgkin's lymphoma[J]. Cancer Res, 2009, 69(13):5522-5530.
- [15] 钟伟杰, 李庆山, 许昕, 等. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者 Th17 细胞及相关细胞因子水平与预后的关系[J]. 广东医学, 2016, 37(5):674-677.
- [16] JI D, LI Q, CAO J, et al. Thalidomide enhanced the efficacy of CHOP chemotherapy in the treatment of diffuse large B cell lymphoma: a phase II study[J]. Oncotarget, 2016, 7(22):33331-33339.
- (收稿日期:2018-08-29 修回日期:2018-12-18)
- (上接第 744 页)
- [5] PENNO E C, CRUMP J A, BAIRD S J. Performance Requirements to Achieve Cost-Effectiveness of Point-of-Care Tests for Sepsis Among Patients with Febrile Illness in Low-Resource Settings[J]. Am J Trop Med Hyg, 2015, 93(4):841-849.
- [6] 黄静沁, 左玫, 李智, 等. POCT 法与 Roche 电化学发光法检测心肌标志物的比较[J]. 检验医学, 2010, 25(9):734-736.
- [7] 贺喜艳. POCT 法和 Roche 电化学发光法对心肌标志物的检测比较[J]. 临床医学, 2014, 34(11):112-113.
- [8] 王彬, 岳化葵, 熊玮, 等. POCT 检测肌红蛋白对心肌梗死的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(5):722-724.
- [9] SANJAY S T, FU G, DOU M, et al. Biomarker detection for disease diagnosis using cost-effective microfluidic platforms[J]. Analyst, 2015, 140(21):7062-7081.
- [10] FAN J, MA J, XIA N, et al. Clinical Value of Combined Detection of CK-MB, MYO, cTnI and Plasma NT-proBNP in Diagnosis of Acute Myocardial Infarction[J]. Clin Lab, 2017, 63(3):427-433.
- [11] 安园. 分析急性心肌梗死诊断中心肌损伤标志物联合应用的临床价值[J]. 影像研究与医学应用, 2018, 2(6):18-19.
- [12] TANYANYIWA D, DANDARA C, BHANA S A, et al. Implementation of POCT in the diabetic clinic in a large hospital[J]. Afr Health Sci, 2015, 15(3):902-907.
- [13] GAO T, CAO X, GE P, et al. A self-assembled fluorescent organic nanoprobe and its application for sulfite detection in food samples and living systems [J]. Org Biomol Chem, 2017, 15(20):4375-4382.
- [14] 梁玉庚, 孙笑菊, 武飞飞, 等. 胶体金免疫层析法与化学发光法在心肌梗死诊断中的价值比较[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(22):5601-5602.
- [15] 胥国强, 康清秀, 李文楷, 等. 5 种床旁检测法与 Abbott 化学发光法检测心肌标志物的对比研究[J]. 四川医学, 2018, 39(2):157-160.
- (收稿日期:2018-08-10 修回日期:2018-11-21)