

实验室诊断技术研究专题 · 论著 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.18.002

免疫透射比浊法检测血清铁蛋白的性能评价*

刘 继,童辉纯,彭建明,袁春雷,叶贵诚,官燕飞
中山市博爱医院检验科,广东中山 528400

摘 要:**目的** 对免疫透射比浊法定量测定血清铁蛋白(FER)进行方法学评价。**方法** 参照美国临床和实验室标准化协会推荐的评价方法,对免疫透射比浊法测定血清 FER 的精密度、线性范围、比对试验、回收试验、干扰试验、参考范围验证等进行评价。**结果** 免疫透射比浊法测定血清 FER 的批内、批间变异系数均 $<5.0\%$,精密度良好;免疫透射比浊法测定血清 FER 水平在 $10\sim1\,000\text{ ng/mL}$,检测线性良好;免疫透射比浊法测定血清 FER 与化学发光法比较,结果相关性良好($r^2=0.998\,1$),检测结果差异无统计学意义($P>0.05$);回收率为 $96.02\%\sim102.74\%$;当标本中 $\text{BIL}\leq 498.40\text{ }\mu\text{mol/L}$ 、 $\text{TG}\leq 9.90\text{ mmol/L}$ 、 $\text{Hb}\leq 500\text{ mg/dL}$ 时,对免疫透射比浊法无干扰,参考范围验证通过。**结论** 免疫透射比浊法用于定量检测血清 FER,精密度良好,线性范围广,结果准确,干扰因素小,操作简单,能直接在全自动生化分析仪上使用,满足临床检测需求。

关键词:免疫透射比浊法; 铁蛋白; 方法学评价

中图分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)18-2597-04

Performance evaluation of immunotransmission turbidimetry for detecting serum ferritin*

LIU Ji, TONG Huichun, PENG Jianming, YUAN Chunlei, YE Guicheng, GUAN Yanfei

Department of Clinical Laboratory, Zhongshan Municipal Boai Hospital,
Zhongshan, Guangdong 528400, China

Abstract:**Objective** To conduct the methodological evaluation on the immunotransmission turbidimetry for quantitatively detecting serum ferritin (FER). **Methods** According to the evaluation method recommended by CLSI, the accuracy, linear range, comparison test, recovery test and interference test of immunotransmission turbidimetry for detecting serum FER were evaluated. **Results** The intra-batch and inter-batch coefficient of variation (CV) of serum FER by immunotransmission turbidimetry all were $<5.0\%$, the precision was good; the detection linearity of serum FER by immunotransmission turbidimetry was good in the range of $10\sim1\,000\text{ ng/mL}$; the correlation between the detection results of serum FER by immunotransmission turbidimetry and chemiluminescence was good ($r^2=0.998\,1$), there was no statistically significant difference ($P>0.05$); the recovery rate was $96.02\%\sim102.74\%$. When serum $\text{BIL}\leq 498.40\text{ }\mu\text{mol/L}$, $\text{TG}\leq 9.90\text{ mmol/L}$ and $\text{Hb}\leq 500\text{ mg/dL}$, there was no interference to this method. The reference range verification was passed. **Conclusion** The immunotransmission turbidimetric method used for quantitative detection of serum FER has good precision, wide linear range, accurate and reliable results, small interference factors, simple and fast operation, and can be directly used on automatic biochemical analyzer, which can meet the needs of clinical sample detection.

Key words: immunotransmission turbidimetry; ferritin; methodological evaluation

铁蛋白(FER)是一种相对分子质量约为 450×10^3 的含铁蛋白质,具有强大的铁结合和储备能力,是人体内除血红蛋白外含铁最丰富的蛋白质^[1],主要分布于骨髓、肝、脾内。FER在铁缺乏疾病中降低,是诊断缺铁性贫血最可靠和最敏感的指标^[2],特别是可极早诊断体内铁缺乏^[3]。FER在铁超负荷疾病、炎症、肝脏疾病及恶性肿瘤时可以显著升高^[4],被广泛应用于肿瘤的筛查和辅助诊断。本文对免疫透射比浊法检测 FER 进行方法学评价验证,判断其是否能满足

临床检测需求。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 免疫透射比浊法检测 FER 试剂盒、校准物、质控物均由重庆中元生物技术股份有限公司提供,仪器为美国贝克曼库尔特 AU5800 型自动生化分析仪。比对系统为罗氏 Cobas E601 全自动化学发光分析仪分析系统及配套 FER 试剂盒。

1.2 免疫透射比浊法检测血清 FER 性能评价

1.2.1 精密度评价 参照美国临床和实验室标准化

* 基金项目:广东省中山市医学科研项目(2018J127)。
作者简介:刘继,女,主管技师,主要从事临床检验和血液方面的研究。

协会(CLSI) EP5-A2 文件,分别取血清 FER 低值(< 30 ng/mL)、中值(30~250 ng/mL)、高值>250 ng/mL)的混合血清标本各 2 份。其中一份在 2 h 内连续测定 20 次,计算批内均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV);另一份每天测定 1 次,连续测定 20 d,计算批间 $\bar{x}$ 、 s 和 CV。

1.2.2 线性范围 参考 CLSI EP6-A 文件,取 FER 水平接近 10 ng/mL 及 1 000 ng/mL 血清标本各 1 份,按 4L、3L+1H、2L+2H、1L+3H、4H 的关系配制,形成系列水平梯度。将每个标本重复检测 3 次,计算平均值作为实测水平(Y),理论水平(X)与实测水平(Y)采用线性回归进行线性评价,并计算出回归方程及相关系数 r^2 。

1.2.3 比对试验 参照 CLSI EP9-A2 文件,以罗氏 Cobas E601 全自动化学发光分析仪检测系统为参比方法,以重庆中元生物技术股份有限公司的胶乳增强透射免疫比浊法 FER 检测试剂盒应用于美国贝克曼库尔特 AU5800 型自动生化分析仪为试验方法,两个检测系统严格按照说明书进行操作,质控均在控,同时检测 FER 水平在 10~1 000 ng/mL 的无溶血、黄疸、脂血的 50 例患者血清标本各 3 次,计算 $\bar{x}$,统计分析计算出比对方程和相关系数。

1.2.4 回收试验 参照 CLSI EP15-A 文件,选取新鲜的患者血清混合后作为基础标本,重复检测 3 次,计算均值作为标本基础值,向 1 mL 的基础标本中分别加入 1 mL 的 0、50、100、200、500、1 000 ng/mL FER 标准品。每份标本重复检测 3 次计算 $\bar{x}$ 。用测定值减去理论值确定回收量并计算回收率,回收率(%)=回收量/加入量×100%。

1.2.5 干扰试验 本研究仅验证溶血、脂血、胆红素(BIL)对结果的干扰。取 BIL、三酰甘油(TG)溶液,分别加入 FER(水平为 50~1 000 ng/mL)混合血清中,使 BIL 水平约为 500 $\mu\text{mol/L}$,TG 水平约为 10 mmol/L。取血红蛋白(Hb)定质液(100 g/L)用蒸馏水稀释成 1 000 mg/dL 的 Hb 溶液加入等体积的 FER(水平为 100~1 000 ng/mL)混合血清中,使 Hb 水平为 500 mg/dL。取 5 份混合血清,分别以 4:1、3:2、2:3、1:4 加入 0 ng/mL FER 标准品,每份标本重复检测 3 次计算 $\bar{x}$ 。用测定值减去理论值确定回收量并计算回收率,回收率(%)=回收量/加入量×100%。

1.2.6 参考范围验证 参照美国临床实验室标准化委员会 C28-A2 文件,选择在本院体检中心体检的健康体检者血清标本 40 份(男女各 20 例,年龄 16~65 岁)作为参考人群,将测定结果进行统计并对试剂说明书提供的参考区间进行验证。如果参考人群的 FER 检测值不超过 4 个落在厂家声明的参考区间外,则验证通过。

1.3 统计学处理 利用 SPSS20.0 统计软件和 Microsoft Excel 2013 软件进行数据分析,以 $P<0.05$

为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密度试验结果 免疫透射比浊法测定 FER 低值、中值、高值批内 CV 分别为 3.48%、0.97%、2.09%,批间 CV 分别为 4.43%、2.88%、2.10%,均符合试剂厂家标明的精密度要求,见表 1。

表 1 FER 批内及批间精密度

标本	检测次数	批内		批间	
		$\bar{x}\pm s(\text{ng/mL})$	CV(%)	$\bar{x}\pm s(\text{ng/mL})$	CV(%)
低值	20	26.74±0.93	3.48	26.24±1.16	4.43
中值	20	195.34±1.89	0.97	197.59±5.69	2.88
高值	20	511.14±10.69	2.09	514.39±10.81	2.10

2.2 线性试验结果 将 FER 理论值作为横坐标(X),测量值为纵坐标(Y)进行线性回归分析。结果显示免疫透射比浊法检测 FER 在 10~1 000 ng/mL,线性良好,回归方程 $Y=1.008\ 4X-1.679\ 7$, $r^2=0.999\ 4$,符合厂家要求,见图 1。

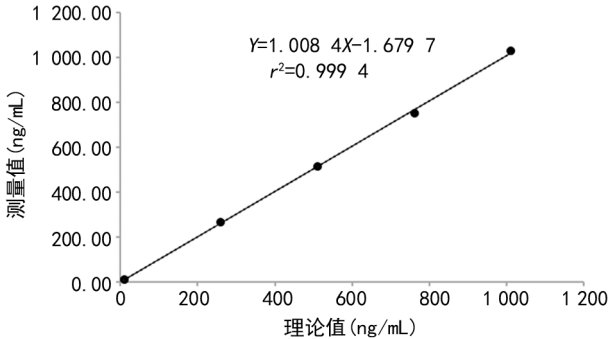


图 1 FER 线性测定

2.3 比对试验结果 免疫透射比浊法测定 FER 结果与电化学发光法检测结果相关性良好。线性回归方程 $Y=0.980\ 7X+1.391\ 3$,线性回归系数 $r^2=0.998\ 1$ 。两个检测系统测定结果均值差异无统计学意义($P>0.05$),见图 2。

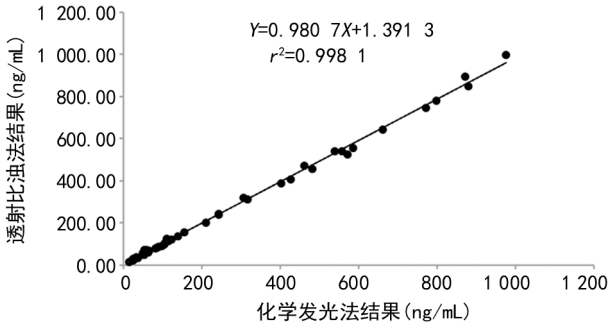


图 2 FER 比对试验

2.4 回收试验结果 回收率为 96.02%~102.74%,平均回收率为 99.94%,符合试验要求,见表 2。

2.5 干扰试验结果 由表 3 可见,当标本中 BIL≤498.40 $\mu\text{mol/L}$ 、TG≤9.90 mmol/L、Hb≤500 mg/dL 时,对免疫透射比浊法无干扰。

2.6 参考范围验证结果 经验证 FER 水平有 38 个

在试剂说明书提供的参考区间范围,有 2 个超出所验证的参考区间,参考区间通过验证。

表 2 免疫透射比浊法对不同水平 FER 样品的回收试验结果

标本	测定值 (ng/mL)	加入值 (ng/mL)	回收值 (ng/mL)	回收率 (%)
1	60.31	0	—	—
2	85.81	25	25.5	102.00
3	111.68	50	51.37	102.74
4	159.39	100	99.08	99.08
5	300.35	250	240.04	96.02
6	559.70	500	499.39	99.88

注:—表示无数据。

表 3 免疫透射比浊法对不同水平干扰物的回收试验结果

干扰物	加入量	理论值 (ng/mL)	测定值 (ng/mL)	回收率 (%)
BIL(μmol/L)	498.40	167.51	—	—
	398.72	134.01	136.14	101.59
	299.04	100.51	99.05	98.55
	199.36	67.00	65.01	97.03
	99.68	33.50	32.06	95.70
TG(mmol/L)	9.90	351.30	—	—
	7.92	281.04	282.22	100.42
	5.94	210.78	217.24	103.06
	3.96	140.52	146.06	103.94
	1.98	70.26	73.30	104.33
Hb(mg/dL)	500	789.46	—	—
	400	631.57	611.46	96.82
	300	473.68	453.62	95.77
	200	315.78	301.15	95.37
	100	157.89	152.81	96.78

注:—表示无数据。

3 讨 论

血清 FER 与骨髓铁染色结果相关性良好^[5-7],一般认为血清 FER<15 ng/mL 即可诊断为铁缺乏^[8],是反映体内铁贮存量最有价值的参数。肝脏作为合成和储存 FER 的主要场所,FER 水平与肝细胞受损程度呈正相关^[9],故而 FER 可以作为诊断肝癌等肝脏疾病比较灵敏的指标^[10]。除此之外,血清 FER 在肺癌、乳腺癌、卵巢癌、恶性血液病患者中也明显增高^[11-13]。

目前临床实验室测定 FER 的方法主要有化学发光法、放射免疫法等,前者检测的灵敏度高,反应时间短,线性范围广,但需要特定配套的化学发光仪和试剂盒,测定的成本较高,这也限制了其在基层单位的应用;后者加样、离心全部是手工操作,步骤较复杂,带来误差的环节较多,而且存在同位素的半衰期短、放射性的危害等缺点。

根据 ISO15189 对实验室质量的要求,实验室必须对检测系统进行验证。本文主要是对重庆中元生物技术股份有限公司生产的胶乳增强免疫透射比浊法 FER 检测试剂盒进行性能评价。在美国贝克曼库尔特 AU5800 型自动生化分析仪上,参照 CLSI 系列

文件,结果显示,胶乳增强免疫透射比浊法检测 FER 批内和批间 CV 均小于 5%,说明此试剂盒重复性较好,符合厂家声明的精密度的要求;在 10~1 000 ng/mL 线性良好($r^2=0.999\ 4$),能较好满足临床需求;比对试验显示,免疫透射比浊法与化学发光法相比较二者相关性好($r^2=0.998\ 1$);96.02%~102.74%的回收率提示免疫透射比浊法具有较高的准确性;当标本中 BIL≤498.40 μmol/L、TG≤9.90 mmol/L、Hb≤500 mg/dL 时,对免疫透射比浊法无干扰。

综上所述,免疫透射比浊法可应用于全自动生化分析仪检测 FER,随机误差小、重复性好、线性范围广、抗干扰能力强,能满足临床需求;与化学发光法比较,结果准确,费用相对较低,能减轻患者负担,广泛适用于临床。

参考文献

[1] 杨本善,李雪,文江平,等. 60~80 岁表观健康人群血清铁蛋白参考区间的建立[J]. 检验医学,2017,32(3):161-164.

[2] 门卫东. 中北大学教职工贫血状况调查分析[J]. 中国药物与临床,2018,18(4):534-535.

[3] 宋涛,谭诗,李秋红. 胶体金法检测全血铁蛋白的性能评价及其在儿童缺铁性贫血中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(12):1639-1641.

[4] 赵锐,戴雯,徐万州. 胶乳免疫比浊法测定血清铁蛋白的方法学评价[J]. 海南医学,2017,28(5):763-765.

[5] 范公忍,熊锦华,孟丹,等. 血清铁、铁蛋白和转铁蛋白联合检测在儿童营养性缺铁性贫血筛查中的应用价值[J]. 中国妇幼保健,2014,29(6):890-892.

[6] 夏存玉. 骨髓细胞形态学、铁染色与血清学铁指标联合检测对慢性病贫血及缺铁性贫血的诊断价值[J]. 医药论坛杂志,2018,39(9):106-108.

[7] 侯霞,邓德耀,田维娟,等. 骨髓细胞学、铁染色及血清铁蛋白联合检查对不明原因贫血的诊断价值[J]. 检验医学与临床,2015,12(20):3104-3106.

[8] 王艳艳. 血清铁蛋白检测的意义[J]. 内蒙古医科大学学报,2015,57(1):90-92.

[9] 牛广林,程昌盛,潘卫珍,等. 血清铁蛋白水平诊断原发性肝癌的价值[J]. 广西医学,2018,40(2):209-210.

[10] 戚素银,孙泽林,戚晓渊. 血清肿瘤标志物联合检测对早期肝癌诊断的临床价值[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(8):1092-1094.

[11] 牛玉峰. 血清铁蛋白联合 4 种肿瘤标记物早期诊断老年肺癌的价值研究[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(13):1606-1609.

[12] 赵晓华. 血清铁蛋白在恶性血液病诊断与治疗中的价值[J]. 实用临床医学,2014,15(12):7-9.

[13] 张勇,刘爱胜,文艳. SF、LDH 和 γ-GT 检测在乳腺癌诊断治疗中的临床应用价值[J]. 临床和实验医学杂志,2014,13(11):887-889.