

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.09.005

稀释对胱抑素 C 标准物质 ERM-DA471 互换性的影响^{*}李 敏¹, 邵 燕¹, 孙江漫¹, 于洪远^{1△}, 陈宝荣²

1. 北京航天总医院检验科, 北京 100076; 2. 北京金域医学检验实验室有限公司, 北京 100015

摘 要:目的 评价稀释对胱抑素 C 标准物质 ERM-DA471 互换性的影响。方法 按照说明书将 ERM-DA471 溶解, 得到水平为 5.48 mg/L 的原液, 采用称重法将原液稀释为 4.0、2.0、1.0、0.5 mg/L 的系列水平。收集无溶血、无乳糜的血清标本 42 份, 将 5 个系列水平的 ERM-DA471 穿插其中, 选用 9 个市场占有率较高的检测系统, 对待评价标本检测 3 次, 结果取平均值, 根据 EP14-A3 标准评价系列水平标准物质 ERM-DA471 的互换性。结果 将 9 个检测系统两两组合, 将 42 份血清标本的检测结果进行回归分析, 回归方程对应的斜率范围为 0.782~1.125, 截距范围为 -0.216~0.141, R^2 范围为 0.991~0.998。根据预测值的 95%CI 进行判断, 原水平 ERM-DA471 的检测结果显示具有互换性的检测系统组合占 41.7% (15/36); 水平为 4.0、2.0、1.0、0.5 mg/L 的 ERM-DA471 检测结果具有互换性的检测系统组合分别占 44.4% (16/36)、80.6% (29/36)、69.4% (25/36)、69.4% (25/36); 稀释后互换性未发生改变的检测系统组合占 16.7% (6/36)。结论 经稀释后的 ERM-DA471 在大部分检测系统组合间的互换性发生改变, 临床在使用稀释后的标准物质 ERM-DA471 作为校准品时, 需要重新评估其互换性。

关键词: 胱抑素 C; ERM-DA471; 标准物质; 互换性

中图分类号: R446

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)09-1170-04

Influence of dilution on the interchangeability of cystatin C reference material ERM-DA471^{*}LI Min¹, SHAO Yan¹, SUN Jiangman¹, YU Hongyuan^{1△}, CHEN Baorong²

1. Department of Clinical Laboratory, Beijing Aerospace General Hospital, Beijing 100076, China;

2. Beijing Jinyu Medical Laboratory Co., Ltd., Beijing 100015, China

Abstract: **Objective** To evaluate the influence of dilution on the interchangeability of cystatin C reference material ERM-DA471. **Methods** ERM-DA471 was dissolved according to the instructions to obtain a stock solution with a level of 5.48 mg/L, and the stock solution was diluted to a series of levels of 4.0, 2.0, 1.0 and 0.5 mg/L by the weighing method. Collected 42 serum specimens without hemolysis and chyle, interspersed 5 levels of ERM-DA471 among them, selected 9 detection systems with high market share, and detected the evaluation specimens 3 times, the results were averaged. The interchangeability of serial level reference material ERM-DA471 was evaluated according to EP14-A3 standard. **Results** The 9 detection systems were combined in pairs, and the detection results of 42 serum specimens were analyzed by regression analysis. The corresponding slopes of the regression equations ranged from 0.782 to 1.125, the intercepts ranged from -0.216 to 0.141, and the R^2 ranged from 0.991 to 0.998. According to 95%CI of predicted value, 41.7% (15/36) of detection system combinations with interchangeability were found at the detection results of original ERM-DA471 level. The interchangeable detection system combinations of the detection results of ERM-DA471 at levels of 4.0, 2.0, 1.0 and 0.5 mg/L accounted for 44.4% (16/36), 80.6% (29/36), 69.4% (25/36), 69.4% (25/36) respectively. The detection system combinations whose interchangeability did not change after dilution accounted for 16.7% (6/36). **Conclusion** The interchangeability of diluted ERM-DA471 among most detection system combinations has changed, and when the clinical uses the diluted reference material ERM-DA471 as a calibrator needs to re-evaluate its interchangeability.

Key words: cystatin C; ERM-DA471; reference material; interchangeability^{*} 基金项目: 国家重点研发计划(ZLJC1706-1-1)。

作者简介: 李敏, 女, 技师, 主要从事临床生化检验研究。△ 通信作者, E-mail: jyk711@sina.com。

本文引用格式: 李敏, 邵燕, 孙江漫, 等. 稀释对胱抑素 C 标准物质 ERM-DA471 互换性的影响[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(9): 1170-

胱抑素 C 是一种比血肌酐更敏感的早期肾损伤标志物,其也能更准确地反映内源性肾小球滤过率^[1]。即往由于没有统一的胱抑素 C 标准物质,导致不同系统之间检测结果的差异较大。2010 年欧洲标准物质 ERM-DA471 的推出^[2],有效保障了胱抑素 C 检测结果的一致性,该标准物质是通过分离混合血清中的干扰物,添加重组胱抑素 C 制备而来^[3]。目前,关于 ERM-DA471 互换性的研究收集的单人份血清标本水平范围未能覆盖 ERM-DA471,可能对互换性结果的判断有影响,同时,研究中也未将 ERM-DA471 稀释成系列水平后进行互换性评价^[4]。因此,本研究重点针对上述两个不足之处进行了相关探讨,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集北京航天总医院 2021 年 5 月 10 日至 16 日门诊、住院患者胱抑素 C 水平为 0.5~8.0 mg/L 的 42 份无溶血、无乳糜的血清标本,血清标本水平覆盖标准物质 ERM-DA471 的水平,每份血清标本分为两份,置于-80℃冰箱保存。有证标准物质为 ERM-DA471/国际临床化学和检验医学联合会(IFCC)。

1.2 仪器与试剂 日立 7170A 全自动生化分析仪、LA120S 型电子天平、Eppendorf reference 移液器。九强生物技术股份有限公司(公司 A)、迈克生物股份有限公司(公司 B)、迈瑞生物医疗电子股份有限公司(公司 C)、罗氏公司(公司 D)、中元生物技术有限公司(公司 E)、积水医疗科技有限公司(公司 F)、德赛公司(公司 G)、瑞源生物科技有限公司(公司 H)、景源生物科技股份有限公司(公司 I)生产的胱抑素 C 检测试剂及其配套校准品和质控品。

1.3 方法 按照说明书将标准物质 ERM-DA471 进行溶解,得到水平为 5.48 mg/L 的原液(记为 C5),再采用称重法将原液稀释为 4.0、2.0、1.0、0.5 mg/L 的系列水平,按照水平由低到高分别记为 C1~C4^[5]。在日立 7170A 全自动生化分析仪上建立上述 9 家公司的检测系统(系统 A~I),所有参数均由相应公司提供。使用对应的校准品对系统进行校准,质控在控后方可进行检测。将 5 个系列水平的标准物质 ERM-DA471 穿插在 42 份血清标本中排序检测,标本分别按照先奇后偶、倒序、先偶后奇的顺序检测 3 次,结果取平均值。根据 EP14-A3 标准评价系列水平标准物质 ERM-DA471 的互换性^[6]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析。将 9 个检测系统进行两两组合,检测结果构建回归方程,计算 R^2 。观察 5 个系列水平标准物质 ERM-DA471 的检测结果是否落在预测值的 95%CI 内,以此来判断检测结果是否具有互换性。

2 结果

2.1 血清标本和待评价标准物质 ERM-DA471 的检测结果 将 9 个检测系统两两组合,将 42 份血清标本的检测结果进行回归分析,回归方程、 R^2 、斜率的 95%CI 见表 1。36 种检测系统组合对应的斜率范围为 0.782~1.125,截距范围为-0.216~0.141, R^2 范围为 0.991~0.998。各检测系统对 5 个系列水平标准物质 ERM-DA471 的检测结果见表 2。

表 1 36 种检测系统组合检测结果的线性回归分析

检测系统组合	回归方程	R^2	斜率的 95%CI
A-B	$Y=1.051X-0.048$	0.998	1.049~1.082
A-C	$Y=0.962X-0.002$	0.998	0.951~0.969
A-D	$Y=1.019X+0.095$	0.996	1.015~1.058
A-E	$Y=1.050X+0.053$	0.998	1.038~1.063
A-F	$Y=1.018X+0.012$	0.998	1.010~1.043
A-G	$Y=1.024X-0.095$	0.998	1.008~1.028
A-H	$Y=1.085X-0.123$	0.993	1.071~1.105
A-I	$Y=0.855X+0.019$	0.998	0.845~0.862
B-C	$Y=0.913X+0.046$	0.996	0.883~0.922
B-D	$Y=0.969X+0.141$	0.998	0.964~0.996
B-E	$Y=0.998X+0.105$	0.997	0.976~1.067
B-F	$Y=0.967X+0.061$	0.998	0.954~0.979
B-G	$Y=0.972X-0.043$	0.997	0.942~0.988
B-H	$Y=1.030X-0.068$	0.992	1.014~1.050
B-I	$Y=0.812X+0.061$	0.997	0.802~0.822
C-D	$Y=1.056X+0.105$	0.994	1.043~1.148
C-E	$Y=1.090X+0.061$	0.997	1.082~1.117
C-F	$Y=1.055X+0.021$	0.996	1.049~1.067
C-G	$Y=1.063X-0.089$	0.998	1.055~1.074
C-H	$Y=1.125X-0.112$	0.991	1.117~1.162
C-I	$Y=0.887X+0.024$	0.998	0.874~0.906
D-E	$Y=1.027X-0.032$	0.995	0.985~1.041
D-F	$Y=0.996X-0.075$	0.997	0.963~1.000
D-G	$Y=1.001X-0.177$	0.994	0.959~1.015
D-H	$Y=1.062X-0.216$	0.992	1.027~1.071
D-I	$Y=0.836X-0.052$	0.996	0.800~0.845
E-F	$Y=0.968X-0.037$	0.998	0.962~0.986
E-G	$Y=0.974X-0.144$	0.998	0.957~0.986
E-H	$Y=1.032X-0.176$	0.993	1.018~1.053
E-I	$Y=0.812X-0.021$	0.998	0.803~0.822
F-G	$Y=1.005X-0.103$	0.997	0.969~1.017
F-H	$Y=1.064X-0.130$	0.992	1.037~1.078
F-I	$Y=0.839X+0.010$	0.998	0.824~0.842
G-H	$Y=1.057X-0.017$	0.992	1.049~1.083
G-I	$Y=0.833X+0.101$	0.998	0.827~0.848
H-I	$Y=0.782X+0.135$	0.991	0.774~0.795

表 2 9 个检测系统检测 5 个系列水平标准物质
ERM-DA471 的结果 (mg/L)

检测系统	C1	C2	C3	C4	C5
A	0.35	0.90	1.94	3.99	5.69
B	0.33	0.85	2.00	4.32	6.08
C	0.40	0.89	1.94	4.02	5.70
D	0.37	0.88	2.09	4.40	5.95
E	0.39	1.03	2.18	4.38	6.18
F	0.35	0.84	1.99	4.05	5.71
G	0.34	0.83	1.84	3.96	5.77
H	0.39	0.95	2.02	4.19	6.08
I	0.29	0.78	1.67	3.46	4.85

2.2 互换性评价 以检测系统组合中 1 个检测系统对 5 个系列水平标准物质 ERM-DA471 的检测结果为 X , 得到预测值 Y 及其 95%CI, 观察另一个系统的检测结果是否落在预测值 Y 的 95%CI 内^[6]。C5 的检测结果具有互换性的检测系统组合占 41.7% (15/36), C1~C4 与 C5 互换性结果一致的检测系统组合占 16.7% (6/36); C1~C4 的检测结果具有互换性的检测系统组合分别占 69.4% (25/36)、69.4% (25/36)、80.6% (29/36)、44.4% (16/36), 见表 3。

表 3 5 个系列水平标准物质 ERM-DA471 在不同检测系统间的互换性评价

检测系统组合	C1	C2	C3	C4	C5
A-B	C	C	C	NC	NC
A-C	C	C	NC	NC	NC
A-D	C	NC	C	NC	C
A-E	C	C	NC	NC	NC
A-F	C	NC	C	C	NC
A-G	C	C	C	C	C
A-H	NC	C	C	C	C
A-I	C	C	C	C	C
B-C	C	C	C	C	NC
B-D	C	C	C	C	C
B-E	C	C	C	C	C
B-F	C	C	C	NC	NC
B-G	C	C	C	NC	C
B-H	C	NC	C	NC	C
B-I	C	C	C	C	NC
C-D	NC	NC	C	C	NC
C-E	NC	C	C	C	NC
C-F	C	NC	C	NC	NC
C-G	C	C	NC	NC	NC
C-H	C	C	C	NC	NC

续表 3 5 个系列水平标准物质 ERM-DA471 在不同检测系统间的互换性评价

检测系统组合	C1	C2	C3	C4	C5
C-I	NC	C	NC	NC	NC
D-E	C	NC	C	NC	NC
D-F	C	C	C	NC	NC
D-G	NC	NC	C	NC	C
D-H	NC	NC	C	NC	C
D-I	C	NC	C	NC	C
E-F	C	NC	NC	NC	NC
E-G	NC	C	NC	NC	NC
E-H	NC	C	C	NC	NC
E-I	C	C	NC	NC	NC
F-G	C	C	C	C	NC
F-H	NC	NC	C	C	NC
F-I	C	C	C	C	C
G-H	C	C	C	C	C
G-I	NC	C	C	C	C
H-I	NC	C	C	C	C

注: C 为互换; NC 为不互换。

3 讨 论

胱抑素 C 标准物质 ERM-DA471 的出现, 有效促进了检测系统检测结果的一致化, 其技术报告上显示该标准物质基质和新鲜标本不同, 因此在临床应用中应评估其互换性。虽然 ERM-DA471 能溯源至 Si 单位, 但其水平远高于人体内胱抑素 C 的生理水平。目前, 市场占有率较高的试剂盒其校准品均为多点校准, 因此厂家在进行溯源时需要将 ERM-DA471 进行稀释。本研究结果表明, ERM-DA471 在 36 种检测系统组合中的互换性并不理想, 稀释后的各水平 ERM-DA471 在大多数检测系统组合间的互换性发生改变。分析其原因可能有: (1) EP14-A3 评价 ERM-DA471 互换性的缺陷在于两个系统的相关性越好, 95%CI 越窄, ERM-DA471 越不可能有互换性^[6-8], 最终造成 ERM-DA471 在大多数检测系统组合间缺乏互换性。(2) 对 ERM-DA471 进行稀释时, 水平越低, 操作中引入的误差对稀释结果影响越大, 可能造成稀释后的实际水平与靶值的偏倚较大, 研究结果表现为水平越低, 检测偏倚越大。(3) 标准物质在不同检测系统间的结果是否具有互换性取决于两个方面, 即材料与新鲜标本的接近程度及方法的特异性。稀释的过程改变了 ERM-DA471 原有的基质状态, 因此在临床应用过程中不能以原水平 ERM-DA471 的互换性结果来笼统代表稀释后各水平 ERM-DA471 的互换性结果。

本研究通过评估原水平和稀释后不同水平 ERM-DA471 在 36 个检测系统组合间的(下转第 1176 页)

增殖能力减弱。Transwell 小室试验检测结果显示,与 Control siRNA 组、BC 组比较,DJ-1 siRNA 组的迁移细胞数明显减少,表明下调 DJ-1 的表达后 HBE 细胞的体外迁移和侵袭能力减弱。

DJ-1 参与调节细胞的生长周期,在细胞的分裂、增殖、迁移、侵袭中起到了重要作用。笔者前期的研究表明,DJ-1 作为促癌因子加速了细胞周期进程,促进了肺鳞癌细胞系(SK-MES-1 细胞)的侵袭与迁移^[11]。结合本研究结果,表明 DJ-1 作为促癌因子,不仅在肺鳞癌细胞的生长、增殖过程中起作用,而且可能在 HBE 细胞的生长、增殖过程中也起到重要作用。目前,DJ-1 的作用机制尚未完全明确,因此对 DJ-1 的不断深入研究可加深人们对帕金森病以及肿瘤发生、发展、转移等的认知,为临床治疗提供新的研究方向。

参考文献

- [1] YAMANE T, KOZUKA M, YAMAMOTO Y, et al. Protease activity of legumain is inhibited by an increase of cystatin E/M in the DJ-1-knockout mouse spleen, cerebrum and heart[J]. *Biochem Biophys Res*, 2017, 9: 187-192.
- [2] ARIGA H, IGUCHI-ARIGA S M M. Introduction/overview[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1037: 1-4.
- [3] BIOSA A, SANDRELLI F, BELTRAMINI M, et al. Recent findings on the physiological function of DJ-1: beyond Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2017, 108: 65-72.
- [4] KAWATE T, TSUCHIYA B, IWAYA K. Expression of DJ-1 in cancer cells: its correlation with clinical significance[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1037: 45-59.
- [5] YANG J, KIM K S, IYIRHIARO G O, et al. DJ-1 modulates the unfolded protein response and cell death via up-regulation of ATF4 following ER stress[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 135.
- [6] GUADAGNO E, BORRELLI G, PIGNATIello S, et al. Anti-apoptotic and anti-oxidant proteins in glioblastomas: immunohistochemical expression of beclin and DJ-1 and its correlation with prognosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 4066.
- [7] IM J Y, LEE K W, WOO J M, et al. DJ-1 induces thioredoxin 1 expression through the Nrf2 pathway[J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(13): 3013-3024.
- [8] KIM R H, PETERS M, JANG Y, et al. DJ-1, a novel regulator of the tumor suppressor PTEN[J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(3): 263-273.
- [9] MARTIN-NIETO J, URIBE M L, ESTEVE-RUDD J, et al. A role for DJ-1 against oxidative stress in the mammalian retina[J]. *Neurosci Lett*, 2019, 708: 134361.
- [10] ELTOWEISSY M, DIHAZI G H, MULLER G A, et al. Protein DJ-1 and its anti-oxidative stress function play an important role in renal cell mediated response to profibrotic agents[J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(6): 1842-1859.
- [11] 魏旺丽, 汤参娥, 詹显全, 等. siRNA 抑制 DJ-1 基因表达对肺鳞癌 SK-MES-1 细胞生物学行为的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2013, 38(1): 7-13.

(收稿日期: 2021-09-10 修回日期: 2022-03-09)

(上接第 1172 页)

互换性,发现其互换性结果并不理想,且稀释后的 ERM-DA471 在大部分检测系统组合间的互换性发生改变,厂家在使用其进行量值传递的过程中需注意稀释对 ERM-DA471 互换性结果的影响。由于本研究仅使用 EP14-A3 对标准物质 ERM-DA471 的互换性进行评估,可能造成评估结果的片面性,今后的研究中将结合 IFCC 提出的互换性评估方案^[9],使标准物质的互换性评估更加合理、可靠。

参考文献

- [1] 国秀芝, 吴洁, 侯立安, 等. 五种可溯源胱抑素 C 检测结果的一致性评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2014, 37(5): 365-370.
- [2] Institute for Reference Materials and Measurements, Joint Research Centre, European Commission. Certification of cystatin C in the human serum reference material ERM-DA471/IFCC[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2010, 48: 1619-1621.
- [3] 康娟, 王军, 李彦超, 等. 胱抑素 C 国家标准物质的研制[J]. *中华检验医学杂志*, 2013, 36(10): 942-946.
- [4] 张传宝, 赵海建, 曾洁, 等. 胱抑素 C 标准物质 ERM-DA471/IFCC 的互通性研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(5): 306-309.
- [5] GRUBB A, BLIRUP-JENSEN S, LINDSTROM V, et al. First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2010, 48(11): 1619-1621.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of commutability of processed samples; approved guideline-third edition; EP14-A3[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014.
- [7] 刘庆香, 张天娇, 龙琪琛, 等. 参考物质互通性评价方案[J]. *检验医学*, 2021, 36(3): 245-249.
- [8] 陈宝荣, 邵燕, 刘春龙, 等. 不同评价方法对标准物质互换性评价结果的影响[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(11): 808-812.
- [9] NILSSON G, BUDD J R, GREENBERG N, et al. IFCC working group recommendations for assessing commutability part 2: using the difference in bias between a reference material and clinical samples[J]. *Clin Chem*, 2018, 64(3): 455-464.

(收稿日期: 2021-08-16 修回日期: 2022-02-09)