

• 论 著 •

# 应用 NCCLS EP10-A2 文件对五种半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 试剂进行初步评价

陈忠余, 赵世巧, 梁 华, 郭广波, 孙 伟

(重庆市中医院检验科 400021)

**摘要:**目的 对五个厂家的半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(胱抑素 C)试剂检测性能进行初步评价。方法 按照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP10-A2 文件,使用五种试剂分别对胱抑素 C 低值、中值、高值标本进行检测,计算偏倚、总不精密度及其截距、斜率、携带污染、非线性、漂移性,并判断其临床可接受性。结果 五个厂家的试剂总不精密度均在允许范围内,截距、非线性、漂移性均差异无统计学意义;利德曼试剂测定值偏倚大于允许偏倚,其余四个厂家试剂偏倚在允许范围内;科华、景源、迈克、美康的试剂存在携带污染。结论 科华、景源、迈克、美康胱抑素 C 试剂盒准确度和精密度良好,试剂稳定,性能指标基本符合临床要求,但携带污染还有待进一步改进。

**关键词:**试剂盒,诊断; 半胱氨酸蛋白酶抑制剂; 评价; EP10-A2

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2012.02.012

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2012)02-0157-03

## Preliminary function evaluation on five kinds of cystatin C reagent kits according to NCCLS EP10-A2 document

Chen Zhongyu, Zhao Shiqiao, Liang Hua, Guo Guangbo, Sun Wei

(Department of Clinical Laboratory, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Chongqing, Chongqing 400021, China)

**Abstract:**Objective To preliminarily evaluate the performance of five kinds of cystatin(Cys C) reagent kits. **Methods** According to the protocol EP10-A2 provided by National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS), samples with low, middle or high level of Cys C were detected by five kinds of reagent kits. The bias, total imprecision, intercepts, slope rates, nonlinearities, carry-over rate and drifts were calculated and compared with the range of set value to assess clinical acceptability. **Results** Total imprecision of the five kinds of reagent kits were all within allowed range. No significant difference was showed in intercepts, nonlinearities and drifts. Bias of LEADMAN reagent exceeded permissive ranges, and bias of the others four kinds of reagents were within allowed range. Carry-over could be demonstrated in reagent kits of KEHUA, JINGYUAN, MAKER and MEIKANG. **Conclusion** Cys C reagent kits of KEHUA, MAKER, MEIKANG and JINGYUAN might be with fine accuracy, precision and stability, and consistent with clinical application requirements, but more attention should be paid for carry-over.

**Key words:** reagent kits, diagnostic; cysteine proteinase inhibitors; evaluation; EP10-A2

半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cys C)是一种非糖基化的碱性低相对分子质量蛋白质,可自由通过肾小球并被近端肾小管的上皮细胞重吸收和代谢,其血中浓度不受炎症、肌肉量、小管分泌等影响,其浓度与肾小球滤过率(GFR)呈良好的相关性,研究已经证实 Cys C 是较血清肌酐更能准确反映 GFR 的标记物<sup>[1-3]</sup>。目前国内出现了许多胱抑素 C 检测试剂盒,ISO 15189:2007《医学实验室质量和能力专用要求》和《医疗机构临床实验室管理办法》均要求检测系统在用于常规工作前应对其分析性能进行验证确认或分析评价,证实其能够满足预期用途<sup>[4-5]</sup>。本文按照美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP10-A2 文件《临床实验室定量检测方法的初步评价—批准指南》2 版的要求<sup>[6]</sup>,对国内五个厂家的胱抑素 C 试剂盒性能进行初步评价。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 仪器与试剂** 仪器为美国雅培 C16000 全自动生化分析仪。试剂为上海景源医疗器械有限公司(批号 910224)、上海科华生物工程股份有限公司(批号 20100712)、北京利德曼生化股份有限公司(批号 011252K)、四川迈克生物科技有限公司(批号 0910241)、宁波美康生物科技有限公司(批号 20101118)提供,并使用各试剂盒自带的标准品和质控品。

**1.1.2 测定样品** 使用 Randox 公司(英国)生产的质控血清。低值样本:选择 Randox 质控血清(批号 ZCCC01,浓度 0.8

mg/L);高值样本:选择 Randox 质控血清(批号 ZCCC01,浓度 4.2 mg/L);中值样本:将上述低值样本与高值样本按 1:1 等比例混合。各浓度样本以每管 0.25 mL 进行分装(分装成 6 管),置-20℃冰冻保存。

### 1.2 方 法

**1.2.1 测定前准备** 参数设置和操作程序严格按照各试剂盒说明书进行。使用各试剂盒配套的校准品和质控品进行校准和室内质控。室内质控在控后才能进行常规标本的检测。测定前样品室温放置 30 min,使用前充分混匀。

**1.2.2 测定方法** 按照 NCCLS EP10-A2 文件要求<sup>[6]</sup>,每天按中、高、低、中、中、低、低、高、高、中的顺序测定,第一个样本作为灌注系统用,不做统计。每天测定一批,连续测定 5 d。每批测定为连续测定,在测定过程中无论何种原因,如果后面的 9 个数据中的任何一个被拒绝、丢失或没有报告,整个过程就必须重做。

### 1.3 结果判断标准

**1.3.1 设定值** 高值和低值样本采用 Randox 质控血清标示值,中值为高值与低值的平均值。

**1.3.2 允许偏倚** 参照美国临床实验室修正法规(CLIA'88)规定的总允许误差<sup>[7-8]</sup>。允许偏倚设为 15%。

**1.3.3 允许不精密度** 总不精密度小于美国临床实验室修正法规(CLIA'88)规定的总允许误差的 1/3<sup>[7-8]</sup>。允许不精密度为 5%。

1.3.4 截距、斜率、非线性、互染率、漂移性严格按照 NCCLS EP10-A2 文件计算。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2003 进行数据处理,包括偏倚、总不精密度,多重线性回归统计分析采用 *t* 检验。

## 2 结 果

2.1 偏倚分析 以各浓度 5 d 的测定结果均值与其对应设定

值计算偏倚,判断检测系统的偏倚可接受性,结果见表 1。

2.2 总不精密度分析 按照 EP10-A2 文件提供的方法,计算总不精密度,判断检测系统的精密度可接受性,结果见表 1。

2.3 多元回归分析 对 5 d 测定结果进行计算,并按文件对数据进行 *t* 检验,取均值,对截距、斜率、非线性、携带污染率、漂移性进行分析,结果见表 2。

表 1 五个厂家胱抑素 C 试剂偏倚和总不精密度结果 (%)

试剂盒		设定值	实际偏倚	允许偏倚	总不精密度	允许不精密度
上海景源	低值	0.8	11.94	15.00	2.95	5.00
	中值	2.5	9.24	15.00	2.26	5.00
	高值	4.2	4.71	15.00	1.67	5.00
上海科华	低值	0.8	12.10	15.00	3.20	5.00
	中值	2.5	10.40	15.00	2.43	5.00
	高值	4.2	9.30	15.00	1.35	5.00
北京利德曼	低值	0.8	-23.88	15.00	3.88	5.00
	中值	2.5	-29.20	15.00	2.24	5.00
	高值	4.2	-31.50	15.00	2.57	5.00
四川迈克	低值	0.8	14.10	15.00	3.24	5.00
	中值	2.5	-5.10	15.00	2.43	5.00
	高值	4.2	-8.34	15.00	1.65	5.00
宁波美康	低值	0.8	-2.74	15.00	2.68	5.00
	中值	2.5	-3.80	15.00	1.40	5.00
	高值	4.2	1.87	15.00	1.60	5.00

表 2 五个厂家胱抑素 C 试剂截距、斜率、非线性、携带污染率、漂移性分析

试剂盒	统计分析	截距	斜率	携带污染率 (%)	非线性	漂移性
上海景源	均值	0.227 9	0.980 7	-0.151 1	-0.006 9	0.001 4
	<i>t</i>	2.365 0	0.828 2	-11.202 2*	-0.963 2	0.318 2
上海科华	均值	0.313 8	0.914 3	0.782 7	-0.006 3	0.002 5
	<i>t</i>	1.678 0	1.892 9	90.414 5*	-1.328 4	0.902 6
北京利德曼	均值	0.141 3	0.569 9	-0.051 0	0.010 8	0.023 4
	<i>t</i>	2.007 0	25.233 5#	-2.180 0	1.062 3	3.107 0
四川迈克	均值	0.173 8	0.866 5	0.567 7	0.008 7	-0.003 1
	<i>t</i>	3.638 0	11.538 2#	49.926 7*	1.424 5	-0.835 7
宁波美康	均值	0.067 5	0.934 4	-0.188 0	0.006 8	0.005 4
	<i>t</i>	1.148 0	4.021 1	-34.008 3*	2.358 7	3.053 2

如 *t* > 4.6 或小于 -4.6, 则差异有统计学意义, *P* < 0.01。\* : *P* < 0.01, 与“0”比较; # : *P* < 0.01, 与“1”比较。

## 3 讨 论

目前国内出现了许多胱抑素 C 检测试剂盒,按照《医疗机构临床实验室管理办法》的要求,任何检测系统用于临床前,必须对其性能进行验证,NCCLS EP 系列文件是目前最为规范的检验方法或检测系统分析性能评价工具,EP10-A2 评价方案可用于对仪器、试剂、手工操作或其他临床体外诊断方法进行初步评价。与传统的评价方案相比,EP10-A2 文件不仅需要数据少,时间短,且更简便,效率高,可操作性强,利用特定的顺序测试样本情况,使得评价结果更真实,而且还能完成传统评价方法不具备的非线性度和漂移度的检验<sup>[9-10]</sup>。通常以偏

倚、截距、斜率来判别评价对象的准确度,以非线性来判别评价对象的线性,以总不精密度和漂移度来检验其精密度,以携带污染率来检测仪器的互染率<sup>[11]</sup>。本文参考 EP10-A2 文件对国内五种试剂分别与雅培 C16000 全自动生化分析仪组成检测系统的偏倚、总不精密度、截距、斜率、非线性、携带污染、漂移性进行了初步分析。

精密度是检测系统的主要分析性能之一,更是其他性能评价的基础。精密度通常用不精密度表示,不精密度是表示测定过程中随机误差的大小。实验表明,五个厂家的试剂总不精密度均小于允许不精密度,说明五个厂家的试剂均有较好的重复

性,精密度高。

本研究以 Randox 公司胱抑素 C 质控血清设定值为靶值,分析五个检测系统的偏倚。科华、景源、迈克、美康胱抑素 C 试剂检测结果与靶值的相对偏倚均在 CLIA'88 规定允许误差范围内,而利德曼试剂的低、中、高值的偏倚均大于允许偏倚。分析其原因,可能与试剂的测定原理(利德曼试剂为胶体金颗粒免疫比浊,另外四种试剂为免疫比浊)、标准赋值、参数设置等有关。实验结果提示,各个试剂组成的检测系统测定结果并不完全一致,与相关文献报道相似<sup>[2]</sup>,是否可通过校正因子来进行纠正,从而使检测结果在不同试剂组成的系统间达到一致存在争议,也有待进一步的验证研究。

本实验五个厂家的试剂盒组成的检测系统截距、非线性、漂移性均差异无统计学意义,说明各检测系统恒定误差小,检测结果具有良好的线性范围,试剂稳定性好。科华、景源、美康试剂盒的斜率无明显差异,说明试剂盒准确度高,不存在比例误差。而利德曼、迈克试剂盒的斜率有明显差异,但迈克试剂的偏倚在允许偏倚范围内,因此作者认为迈克试剂盒的准确度临床还是可以接受的。

携带污染率是表示各标本之间的交叉污染的指标,常用来检测仪器、试剂的互染率。对于一些检测范围较宽的项目,临床上可能出现极高值,较小的携带污染率也可对低值标本产生较大的影响<sup>[12]</sup>,说明仪器对加样系统和反应系统冲洗不是很干净。实验显示科华、景源、迈克、美康试剂均有携带污染,表明仪器的加样系统和反应系统冲洗不是很干净,因此还需加强仪器的维护、保养以及使用特殊清洗程序等措施降低交叉污染。

以上实验表明,利德曼试剂精密度和稳定性好、携带污染率低,在验证范围内有较好的线性关系,但测定 Randox 公司胱抑素 C 质控血清则偏倚较大。科华、景源、迈克、美康试剂盒的准确度和精密度较好,在验证范围内有较好的线性关系,稳定性好,分析性能符合厂家声明的要求和本室所确定的质量目标,该项目可用于临床标本的检测,但携带污染率的问题有待进一步改进。

参考文献

[1] Dhamidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum Cys C is superior to

serum creatinine as a marker of kidney function; a meta-analysis [J]. *Am J Kidney Dis*, 2002, 40: 221-226.

[2] 李海霞,王学晶,徐国宾,等. 两种不同检测系统测定半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 的方法学评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(11): 1284-1287.

[3] Larerza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate [J]. *Clin Chem*, 2002, 48(5): 63-69.

[4] 冯仁峰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2007: 37.

[5] 徐国宾,蒋琳. 临床生物化学常规定量方法的分析性能评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(6): 718-720.

[6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline[S]. EP10-A2. NCCLS, 2002.

[7] 张秀明,温冬梅,袁勇. 临床生物化学检验质量管理与标准操作程序[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 103.

[8] Department of Health and Human Services, Centers for Medicare & Medicaid Services. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule [J]. *Fed Register*, 2003, 24(16): 3640-3740.

[9] 孙宏华,石凌波,康红,等. 应用 NCCLS EP10-A2 文件分别对自建和配套生化检测系统进行初步性能评价[J]. *检验医学*, 2010, 25(5): 345-348.

[10] 庄健海,张劲丰,叶桂祥. 应用 EP10-A 对 Bayer 脱氧吡啶酚试剂盒的评价[J]. *江西医学检验*, 2005, 23(5): 101-102.

[11] Ehrmeyer SS, Laessing RH. Has compliance with CLIA requirements really improved quality in US clinical laboratories [J]. *Clin Acta*, 2004, 346(1): 37-43.

[12] 张秀明,郑松柏,庄俊华,等. 临床化学发光免疫检测法检测 AFP 的分析性能验证方案与实验方法[J]. *中华检验医学杂志*, 2007(11): 1293-1297.

(收稿日期: 2011-08-08)

(上接第 156 页)

菌肠毒素基因分型的应用[J]. *安徽预防医学杂志*, 2010, 16(2): 150-151.

[5] 张严峻,张俊彦,梅玲玲,等. 金黄色葡萄球菌肠毒素基因的分型和分布[J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 15(6): 682-684.

[6] 吴平芳,石晓路,扈庆华,等. 深圳市细菌性食物中毒病原菌的调查与预防[J]. *职业与健康*, 2006, 22(19): 1563-1564.

[7] Gomei LE, Goyache J, Orden JA, et al. Production of enterotoxin in A by supposedly nonenterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1989, 55: 1447-1451.

[8] 张严峻,张俊彦,梅玲玲,等. 金黄色葡萄球菌肠毒素基因型分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(6): 1417-1418.

[9] Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, et al. Detection of seg seh, and seigenes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of

the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates Harboring seg she, or seigenes [J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(3): 857-862.

[10] Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, et al. Detection of genes for forenterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction [J]. *J Clin Microbiol*, 1991, 29: 426-430.

[11] 张传宝,薛良辉. 山东省 1984~2002 年金黄色葡萄球菌引起食物中毒资料分析[J]. *预防医学文献信息*, 2003, 9(5): 486.

[12] 梁毅珊. 金黄色葡萄球菌肠毒素及其检测方法的研究进展[J]. *中国热带医学*, 2008, 8(9): 1658.

[13] 邱阳,王刚,卢行安. PCR 技术检测食品中金黄色葡萄球菌肠毒素 B 基因[J]. *中国微生态学杂志*, 2004, 16(2): 23-26.

(收稿日期: 2011-08-08)