

· 临床检验研究论著 ·

# 以国际通用标准评价五种胱抑素 C 试剂的方法学性能

赵世巧, 陈忠余<sup>△</sup>, 梁 华, 郭广波, 孙 伟

(重庆市中医院检验科 400021)

**摘要:**目的 对五个不同厂家血清胱抑素 C(Cys C)检测系统的分析性能进行评价和验证。方法 采用美国雅培 C16000 全自动生化分析仪与五个不同厂家胱抑素 C 试剂组成的检测系统测定血清胱抑素 C, 评价的方法学性能指标为精密性、线性、抗干扰性及偏倚。结果 Cys C 浓度在 0.9~7.1 mg/L 时, 各厂家试剂总不精密性(CV) < 6%。在 0.6~5.6 mg/L 浓度范围, 各厂家均有良好的线性范围。血清中一定浓度的胆红素、血红蛋白和乳糜对五个厂家 Cys C 的测定结果产生不同程度的影响, 但与厂家声明相符。除利德曼外各厂家的偏倚均小于 15%。结论 五个厂家 Cys C 试剂的主要分析性能: 精密性、线性、抗干扰性、偏倚的验证结果与厂家声明基本一致, 但利德曼试剂测定结果与 Randox 质控品存在偏差。

**关键词:**胱抑素 C; 方法学性能; 偏倚

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.020

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)13-1584-03

## Methodology performance evaluation on five different detection systems of Cystatin C by international general standard

Zhao Shiqiao, Chen Zhongyu<sup>△</sup>, Liang Hua, Guo Guangbo, Sun Wei

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

**Abstract: Objective** To evaluate and verify the analytic performance of five different Cystatin C(Cys C) detection kits. **Methods** Cys C was detected by Abbott C16000 automatic biochemical analyzer and five kinds of Cys C reagent. The precision, linearity, interference and bias of five detection systems were analyzed. **Results** The total coefficient of variations(CV) of the five reagents were all less than 6% for detecting samples with the concentration of Cys C for 0.9—7.1 mg/L. Within the range of 0.6—5.6 mg/L, the five reagent kits were with good linearity. The detection outcome was interfered to various degree by bilirubin, haematoglobin and chyle, but the interference was consistent with the proclaim of manufacturer. Bias of four kinds of reagents were less than 15%, except for LEADMAN reagent. **Conclusion** The primary analytic performance, including precision, linearity, interference and bias, of the five kits might be consistent with the analytical performance defined by manufacturer, but there could be with bias between the results of LEADMAN kit and Randox control materials.

**Key words:** Cystatin; methodologic performance; bias

为保证质量, 临床实验室在建立或引进新的检验项目时, 应对检测方法的基本性能进行评价, 证实其能够满足临床预期用途<sup>[1-2]</sup>。半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 简称胱抑素 C(Cystatin, Cys C), 是一种低相对分子质量、碱性非糖化蛋白质, 在血中浓度不受年龄、炎症反应、恶性肿瘤等因素的影响, 可自由通过肾小球并被近端肾小管重吸收和代谢, 无肾小管分泌, 其血清浓度与肾小球滤过率(GFR)呈良好的相关性。国内外研究证实, 血清 Cys C 是较血清肌酐更能准确、早期反映 GFR 的标志物<sup>[3-4]</sup>, 具有较好的临床应用价值。目前国内出现了许多胱抑素 C 检测试剂盒, 本实验对国内五个厂家胱抑素 C 试剂盒的不精密性、线性、抗干扰性和偏倚进行评估, 判断其能否满足临床预期用途, 现将结果报道如下。

### 1 材料与试剂

**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。

**1.2 测定样品** 收集高、低两个水平胱抑素 C 的混合血清约 5 mL, 分装后置 -20 °C 冰箱保存, 用于不精密性实验。使用 Randox 公司生产的质控血清(批号 ZCCC01), 用于偏倚评估。

**1.3 干扰物质** 干扰物为血红蛋白、胆红素、乳糜, 由日本 Sysmex 公司提供(批号 ZS0002)。

### 1.4 方法

**1.4.1 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。

**1.4.2 不精密性评价** 按照 NCCLS EP5-A2 文件要求<sup>[5]</sup>, 分别使用五个厂家试剂组成的检测系统, 对高、低值混合血清每天测定两批(批间测定间隔时间不小于 2 h), 每批重复检测 2 次, 连续 20 d, 分别计算批内、批间、天间及总不精密性。将获得的数据与厂家说明书声明的性能指标进行比较, 判断其可接受性。

**1.4.3 线性评价** 按 NCCLS EP6-A2 文件要求<sup>[6]</sup>, 取低值和异常高值血清各 1 份。设低值标本为 L, 高值标本为 H, 将 L 和 H 标本按照: 5L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H、5H 关系精确配制, 形成梯度标本。一天内作 2 次测定, 第 1 次从低浓度到高浓度, 第 2 次从高浓度到低浓度。

**1.4.4 干扰实验** 按 NCCLS EP7-A2 文件要求进行测定<sup>[7]</sup>, 使用 Sysmex 干扰物, 在无溶血、黄疸和脂血的低值和高值混合血清中分别加入不同量的血红蛋白、胆红素、乳糜, 其中干扰物与混合血清按照 1:9 的比例混合, 制成不同浓度的血红蛋

△ 通讯作者, E-mail: czy904798@sohu.com。

白(2、4、8、10 g/L)、胆红素(300、400、500、600 μmol/L)、乳糜(3 000、4 000、5 000、6 000 FTU)的干扰物样品,分别检测原血清和含不同浓度干扰物的血清 Cys C 浓度,每个浓度测定 2 次,结果取均值,以干扰程度为 10%作为该系统对干扰物的最高限<sup>[1]</sup>。

**1.4.5 偏倚评估** 检测 Randox 公司生产的质控血清,每个浓度重复检测 3 次,取均值评估各检测系统的偏倚。参照美国临床实验室修正法规(CLIA'88)规定的总允许误差<sup>[8]</sup>,允许偏倚设为 15%。

**1.5 统计学处理** 采用 Excel 2003 和 SPSS17.0 软件进行数据处理。

**2 结 果**

**2.1 不精密度评价** 见表 1。表 1 显示,五种试剂盒在高、低不同水平混合血清的批内、批间、天间及总不精密度,当 Cys C 浓度在 0.9~7.1 mg/L 时,其总 CV<6%;五种试剂盒的重复性(即批内精密度)以及室内精密度(即总不精密度)通过验证,其性能均在厂家声明的性能要求范围内。

表 1 五个厂家 Cys C 测定的不精密度(mg/L)

试剂厂家	均值( $\bar{x}$ )	标准差(s)				总 CV (%)
		批内不精密度	批间不精密度	天间不精密度	总不精密度	
上海景源	1.16	0.02	0.01	0.05	0.06	5.17
	6.50	0.02	0.04	0.09	0.11	1.69
四川迈克	1.01	0.02	0.00	0.02	0.03	2.97
	7.10	0.02	0.02	0.02	0.04	0.56
北京利德曼	1.21	0.02	0.00	0.03	0.03	2.48
	6.62	0.03	0.03	0.04	0.06	0.91
宁波美康	0.99	0.03	0.01	0.02	0.03	3.03
	6.71	0.03	0.06	0.05	0.09	1.34
上海科华	1.23	0.02	0.02	0.04	0.05	4.07
	7.04	0.02	0.07	0.03	0.08	1.14

**2.2 线性评价** 五种试剂线性分析原始结果见表 2。经多项式回归分析,利德曼、科华、美康和迈克试剂在实验浓度 0.6~5.6 mg/L 范围内为线性,见图 1(图 1 为迈克试剂 Cys C 多项式拟合曲线,利德曼、科华、美康拟合曲线与其相似)。景源试剂在浓度为 0.6~5.6 mg/L 时为二次回归多项式,见图 2(图 2

为景源试剂 Cys C 多项式拟合曲线),其二次多项式和一次多项式拟合模型预期值及偏倚见表 3。结果显示,低浓度样本偏倚大于设定的允许偏倚 15%,但是 Cys C 低值结果在临床上无意义,因此可以认为 Cys C 在 0.6~5.6 mg/L 范围内为临床可接受线性关系。

表 2 五个厂家 Cys C 试剂线性分析测定结果(mg/L)

样本号	配制比例	上海景源		四川迈克		北京利德曼		宁波美康		上海科华	
		结果 1	结果 2	结果 1	结果 2	结果 1	结果 2	结果 1	结果 2	结果 1	结果 2
1	1L	0.69	0.66	0.53	0.53	0.60	0.59	0.58	0.59	0.69	0.71
2	0.8L+0.2H	1.80	1.71	1.56	1.58	1.30	1.32	1.26	1.30	1.55	1.56
3	0.6L+0.4H	3.00	3.03	2.85	2.90	2.76	2.80	2.72	2.67	3.13	3.17
4	0.4L+0.6H	4.00	3.9	3.99	3.90	3.92	3.86	3.78	3.74	4.13	4.16
5	0.2L+0.8H	4.73	4.7	5.00	5.00	5.12	5.13	4.84	4.76	5.02	5.13
6	1H	5.63	5.56	6.24	6.20	6.27	6.31	5.95	5.98	6.22	6.27

表 3 二次多项式和一次多项式拟合模型预期值及偏倚(景源试剂)

样本号	测量均值	预期值		线性偏离	偏倚(%)
		二次多项式	一次多项式		
1	0.68	0.65	0.83	0.18	21.20
2	1.76	1.85	1.81	-0.04	-1.93
3	3.02	2.94	2.80	-0.14	-5.01
4	3.95	3.92	3.78	-0.14	-3.68
5	4.72	4.79	4.76	-0.03	-0.67
6	5.60	5.56	5.75	0.18	3.15

**2.3 干扰实验** 利德曼试剂当血红蛋白小于或等于 4 g/L(说明书为 3 g/L)时无明显干扰,景源、科华、美康和迈克试剂当血红蛋白小于或等于 10 g/L 时未见明显干扰;胆红素浓度小于或等于 600 mmol/L 时对美康、景源、迈克试剂测定高、低值血清 Cys C 的干扰小于 10%;胆红素浓度大于 600 mmol/L(说明书为 485 μmol/L)时对科华试剂测定值干扰大于 10%,胆红素浓度大于 400 mmol/L(说明书为 200 mg/L)时对利德曼试剂测定值干扰大于 10%;乳糜浊度大于或等于 6 000 FTU 时对利德曼试剂测定低值血清的干扰大于 10%,高值血清不受干扰(说明书为 5 000 FTU);乳糜浊度小于或等于 6 000 时

对其他几种试剂测定 Cys C 高、低值血清干扰程度均小于 10%。

2.4 偏倚评估 以各浓度 3 次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 4,除利德曼外其余各厂家的偏倚均可接受。

表 4 五个厂家胱抑素 C 测定偏倚

试剂厂家	质控血清(g/L)	检测值(g/L)				实际偏倚(%)	允许偏倚(%)
		检测值 1	检测值 2	检测值 3	均值		
上海景源	0.80	0.88	0.89	0.91	0.89	11.67	15.00
	4.20	4.39	4.41	4.40	4.40	4.76	15.00
四川迈克	0.80	0.92	0.91	0.91	0.91	14.17	15.00
	4.20	3.85	3.83	3.83	3.84	-8.65	15.00
北京利德曼	0.80	0.60	0.62	0.60	0.61	-24.17	15.00
	4.20	2.84	2.85	2.83	2.84	-32.38	15.00
宁波美康	0.80	0.78	0.78	0.77	0.78	-2.92	15.00
	4.20	4.27	4.29	4.27	4.28	1.83	15.00
上海科华	0.80	0.90	0.89	0.90	0.90	12.08	15.00
	4.20	4.58	4.60	4.59	4.59	9.29	15.00

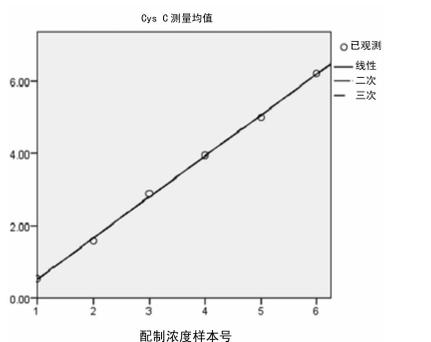


图 1 迈克试剂 Cys C 多项式拟合曲线

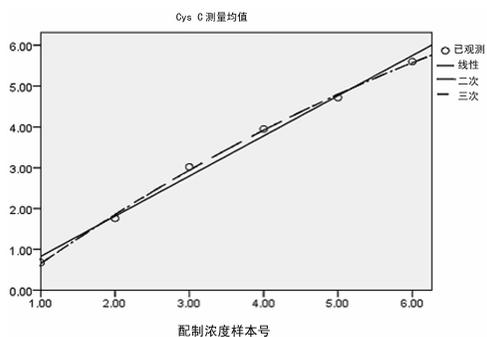


图 2 景源试剂 Cys C 多项式拟合曲线

3 讨论

血 Cys C 是低相对分子质量蛋白质,在肾功能轻、中度减低时,其诊断的敏感性高于肌酐,临床应用广泛<sup>[9]</sup>。随着科学技术的进步,新的检测试剂盒层出不穷,任何试剂在应用于临床之前,应对厂家声明的基本性能在本实验室的检测系统下作该项目的基本性能评价。检测系统的分析性能能够满足临床要求是医学实验室认可和检验结果互认的根本保证<sup>[10]</sup>。本研究对五个厂家生产的试剂盒的主要分析性能:精密性、线性范围、抗干扰性和偏倚进行了分析和评估。

精密性是反映检测系统性能的首要指标,是其他方法学验

证的前提,反映分析中随机误差的大小。本实验按照 NCCLS EP5-A2 文件的要求对五厂家的试剂盒进行了批内、批间、天间和总不精密度的评估,结果显示,当 Cys C 浓度在 0.9~7.1 mg/L 时,各厂家的批内、批间、天间和总不精密度 CV<6%,说明这五个厂家的试剂盒均有较好的重复性,符合厂家声明,均在临床可接受范围内。

线性评价是反映方法学性能的重要指标,常规方法应具有较宽的线性范围,一般应覆盖健康人参考区间和临床可能出现的高值<sup>[11]</sup>。如果方法的线性不够宽,一旦标本测定结果超越范围,结果就会不可靠。经多项式回归分析,利德曼、科华、美康和迈克试剂在实验浓度范围内为线性,景源试剂在浓度为 0.6~5.6 mg/L 时为二次回归多项式,其二次多项式和一次多项式拟合模型预期值及偏倚结果显示,低浓度样本偏倚大于设定的允许偏倚 15%,但是 Cys C 低值结果在临床上无意义,因此可以认为景源 Cys C 在 0.6~5.6 mg/L 范围内为临床可接受线性关系。

干扰实验用来衡量候选方法的准确度,在加入一定浓度的干扰物的条件下,形成的是恒定系统误差,干扰物浓度不同,误差大小也不同。临床标本常见的干扰主要是溶血、黄疸、脂血带来的对结果准确性的干扰,本研究按 NCCLS EP7-A2 文件要求检测不同浓度的胆红素、乳糜、血红蛋白的血清标本,评价试剂抗干扰性。实验结果显示:当血清中胆红素小于或等于 500 mmol/L、血红蛋白小于或等于 10 g/L 和乳糜小于或等于 6 000 FTU 时对科华、景源、迈克、美康四厂家的 Cys C 的测定结果无明显干扰,利德曼试剂当血红蛋白小于或等于 4 g/L (说明书为 3 g/L)、胆红素浓度小于或等于 400 mmol/L (说明书为 200 mmol/L)、乳糜浊度小于或等于 5 000 FTU (说明书为 5 000 FTU) 时无明显干扰,与厂家声明相符。

偏倚实验显示,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,试剂有较高的准确度,而利德曼试剂的低值和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(下转第 1589 页))

激酶应激活化蛋白激酶(JNK/SAPK)途径活化的慢性低度炎症反应是肝脏 IR 的致病因子,肥胖症相关 IR 与循环中 hs-CRP 水平升高有关,hs-CRP 是临床可测的肝脏对炎症反应急性期蛋白的标志和标志物。Retnakaran 等<sup>[8]</sup>认为,人体脂肪组织可合成 hs-CRP,通过调节脂肪代谢参与肥胖的发病机制,研究显示,在糖代谢未见异常的单纯性肥胖成人,hs-CRP 水平明显高于单纯性超重、体质量正常者。Pearson 相关分析显示,hs-CRP 与 BMI、WHR、FIN、HOMA-IR、TG 呈显著正相关,与 HDL-C 呈显著负相关,与 Florez 等<sup>[9]</sup>及 Guven 等<sup>[10]</sup>的研究相符,提示单纯性肥胖成人血清 hs-CRP 水平与 IR 密切相关,并参与了脂质代谢紊乱的形成。多元逐步回归分析显示,BMI、HDL-C、HOMA-IR 是 hs-CRP 的独立决定因素,提示 hs-CRP 升高是由超重、肥胖者体内多种代谢、分泌异常所引起的。肥大的脂肪细胞分泌产生过量的白细胞介素-6 及肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )作用于肝脏,导致 hs-CRP 合成增加,并通过抑制胰岛素受体酪氨酸激酶活性而致 IR。hs-CRP 为多功能蛋白,能激活核因子 $\kappa$ B、激活蛋白-1、丝裂原活化蛋白激酶等多种信号途径,上调炎症反应,加重 IR,刺激胰岛素的分泌、脂肪合成增加,进一步加重肥胖<sup>[11]</sup>。

综上所述,单纯性肥胖成人较超重及体质量正常者存在更为严重的 IR 及高水平的 hs-CRP,hs-CRP 的过量表达参与并加重单纯性肥胖成人 IR、血脂紊乱的发生和发展。

参考文献

[1] Wellen KE, Hotamishigil GS. Inflammation, stress, and diabetes [J]. J Clin Invest, 2005, 115(5): 1111-1119.  
 [2] Kosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis [J]. Nature, 2006, 444 (7121): 847-853.

[3] Tryhurn P. Endocrine and signalling role of adipose tissue; new perspectives on fat [J]. Acta Physiol Scand, 2005, 184 (4): 285-293.  
 [4] Sugita H, Kaneki M, Sugita M, et al. Burn injury impairs insulin-stimulated Akt/PKB activation in skeletal muscle [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005, 288(3): E585-E591.  
 [5] Dugo L, Collin M, Thiemermann C. Glycogen synthase kinase 3 as a target for the therapy of shock and inflammation [J]. Shock, 2007, 27(2): 113-123.  
 [6] Hotamishigil GS. Inflammation and metabolic disorders [J]. Nature, 2006, 441(7121): 860-867.  
 [7] Kovacs A, Green F, Hansson LO, et al. A novel common single nucleotide polymorphism in the promoter region of the C-reactive protein gene associated with the plasma concentration of C-reactive protein [J]. Atherosclerosis, 2005, 178(1): 193-198.  
 [8] Retnakaran R, Hanley AJ, Connelly PW, et al. Elevated C-reactive protein in native Canadian children; an ominous early complication of childhood obesity [J]. Diabetes Obes Metab, 2006, 8(5): 483-491.  
 [9] Florez H, Castllo FS, Mendez A, et al. C-reactive protein is elevated in obese patients with the metabolic syndrome [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2006, 71(1): 92-100.  
 [10] Guven A, Cetnkaya A, Aral M, et al. High-sensitivity C-reactive protein in patients with metabolic syndrome [J]. Angiology, 2006, 57(3): 295-302.  
 [11] Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, et al. Inflammatory process in type 2 diabetes; the role of cytokines [J]. Ann NY Acad Sci, 2006, 1084: 89-117.

(收稿日期: 2012-01-15)

(上接第 1586 页)

乳胶增强免疫比浊)、标准赋值、参数设置等有关。实验结果显示,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>[9,12]</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。

以上实验表明,利德曼试剂精密度高、稳定性好,具有一定的抗干扰能力,在验证范围内有较好的线性关系,但测定 Randox 公司胱抑素 C 质控血清的偏倚较大。科华、景源、迈克、美康试剂盒的准确度和精密度高,在验证范围内有较好的线性关系,抗干扰性强,偏倚小,分析性能通过验证,符合厂家声明和本室所确定的质量目标,能够满足临床预期用途。

参考文献

[1] 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.  
 [2] Ehrmeyer SS, Laessing RH. Has compliance with CLIA requirements really improved quality in US clinical laboratories [J]. Clin Acta, 2004, 346(1): 37-43.  
 [3] Reed CH. Diagnostic applications of cystatin C [J]. Br J Biomed Sci, 2000, 57(4): 323-329.  
 [4] 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(2): 221-226.

[5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition [S]. EP5-A2, CLSI, 2004, 24(25): 1-38.  
 [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; A Statistical Approach; Approved Guideline [S]. EP6-A2, CLSI, 2003, 23(16): 1-46.  
 [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; approved guideline-second edition [S]. EP7-A2, CLSI, 2005, 25(27): 1-51.  
 [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] 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的 C 的方法学评价 [J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1284-1287.  
 [10] 陶华林, 汪碧琼. 医疗机构临床实验室间检验结果互认的探讨 [J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(1): 23-24.  
 [11] 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: 99.  
 [12] 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: 37-42.

(收稿日期: 2012-02-01)