

· 论 著 ·

IFCC 促甲状腺激素国际溯源和检测一致性系列研究

闫玉峰, 张 娟, 李 可, 曾 侦, 余枝广[△]

(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司免疫试剂开发部, 广东深圳 518057)

摘要:目的 考察迈瑞促甲状腺激素(TSH)测定试剂盒(化学发光免疫分析法)精密度、最低检测限、功能灵敏度、抗类似物干扰、抗内源性干扰和校准一致性等性能。确认各项性能均符合国际临床化学甲状腺功能检测标准化委员会(IFCC)促甲状腺激素一致性研究的基本要求。方法 参照相关 EP 文件等性能评估指导,使用迈瑞全自动化学发光免疫检测系统 CL2000i,对 TSH 试剂盒的最低检测限、功能灵敏度、线性、抗类似物干扰、抗内源性物质干扰、精密度以及校准一致性进行测试。结果 最低检测限为 0.001 5 μ IU/mL,功能灵敏度为 0.013 μ IU/mL,在 0~98.95 μ IU/mL 范围内梯度稀释,线性相关系数 $r=0.999$ 。终浓度 500 mIU/mL 的促黄体生成素、500 mIU/mL 的促卵泡生成素及 200 000 mIU/mL 的人绒毛膜促性腺激素分别加入 TSH 空白校准品(C_0)中,TSH 测定结果均不大于 0.2 μ IU/mL。三酰甘油(1 800 mg/dL)、胆红素(10 mg/dL)、血红蛋白(500 mg/dL)或人血清清蛋白(10 g/dL)对 TSH 测试结果的干扰介于-6.91%~8.60%。使用两个浓度水平的质控和 3 个浓度水平的血清标本测得 TSH 总不精密度介于 3.24%~5.34%。使用两个浓度水平的质控测得校准一致性介于-6.58%~5.26%。结论 迈瑞全自动化学发光免疫检测系统 CL2000i 测定 TSH 的基础性能均满足行业标准,具备进行 IFCC 国际溯源和检测一致性评估的条件。

关键词:促甲状腺激素; 化学发光免疫分析法; 性能评估

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)04-0496-03

Performance evaluation of Mindray TSH assay on CL2000i system-pre-requisite for IFCC standardization and harmonization of thyroid function tests

Yan Yufeng, Zhang Juan, Li Ke, Zeng Zhen, Yu Zhiguang[△]

(Immunoassay Reagent Research and Development Department, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics CO., LTD, Shenzhen, Guangdong 518057, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the performance of Mindray TSH chemiluminescence immunoassay, including imprecision, limit of detection, functional sensitivity, interference, cross-reaction, and calibration consistency. The purpose was to confirm Mindray TSH assay meets the criteria of IFCC standardization and harmonization of thyroid functional tests. **Methods** The CLSI guidelines defined in EP documents have been followed to measure the limit of detection, functional sensitivity, specificity, imprecision and calibration consistency of Mindray TSH immunoassay on CL2000i system. **Results** Limit of detection was 0.001 5 μ IU/mL, functional sensitivity was 0.013 μ IU/mL, the correlation coefficient of linearity was 0.999 in the range of 0-98.95 μ IU/mL. Mindray TSH calibrator C_0 spiked with luteinizing hormone (LH) up to 500 mIU/mL, follicle stimulating hormone (FSH) up to 500 mIU/mL, or human chorionic gonadotropin (HCG) up to 200 000 mIU/mL detected no cross reactivity (detected TSH was less than 0.2 μ IU/mL). Hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin up to 10 mg/dL, triglycerides up to 1 800 mg/dL, and protein up to 10 g/dL showed -6.91%~8.60% bias in TSH measurement. The total imprecision of two controls (high and low levels) and three serum specimens were in the range of 3.24% and 5.34%. Calibration consistency which had been demonstrated with high and low controls were measured between -6.58% and 5.26%. **Conclusion** The performance of Mindray thyroid-stimulating hormone assay meets the criteria for IFCC standardization and harmonization of thyroid function tests.

Key words: thyroid stimulating hormone; chemiluminescent immunoassay; performance evaluation

迈瑞全自动化学发光免疫检测系统 CL2000i 应邀参加甲功标准化委员会(C-STFT)发起的促甲状腺激素(TSH)试剂盒检测一致性研究。按照 Van Uytfanghe 提出的“分步”策略^[1],参与一致性研究的试剂首先要保证基础性能,包括最低检测限、功能灵敏度、线性、分析特异度、抗内源性干扰、不精密度及校准一致性等满足临床检验要求(第 1 期),然后开展检测系统方法学比对研究(第 2 期)。为此,对迈瑞 TSH 测定试剂盒进行性能评估。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 深圳迈瑞全自动化学发光免疫检测系统 CL2000i 以及配套的 TSH 试剂盒(批号:20131001、20140601

和 20140901)、校准品(批号:20140701 和 20141201)和低、高值甲状腺功能复合质控品(批号:20131101 和 20140801)。

1.2 方法

1.2.1 最低检测限 对 TSH 空白校准品(C_0)重复测试 20 次,计算相对发光值(RLU)均值(\bar{x})和标准差(s),得出 $\bar{x}+2s$ 对应的 RLU,根据零浓度校准品(C_0)与相邻校准品(C_1)的浓度和 RLU,进行两点线性回归拟合得出一次方程,将 $\bar{x}+2s$ 对应的 RLU 带入方程中,所得浓度即为 TSH 最低检测限。

1.2.2 功能灵敏度 使用 7 例处理过的混合血清样本(浓度范围:0.006~0.095 μ IU/mL),在一台仪器上使用两批 TSH 试剂盒,每批试剂对每例样本各测 10 次,实验共进行 5 周。对

两批试剂测得的混合数据使用 Variance Function Program 12.0 进行拟合,得到以各样本 TSH 浓度均值为横坐标,以批间不精密度[CV(%)]为纵坐标的拟合曲线。计算 CV 为 20% 对应的浓度,即为 TSH 功能灵敏度。

1.2.3 线性 参照临床和实验室标准化协会(CLIS)的方案 EP-6A,使用 TSH 空白校准品(C₀)与接近测量范围上限的 TSH 高值血清样本按照 4:1、3:2、2:3、1:4 的比例梯度混合,得到 4 个稀释样本。对 6 个样本分别重复测试 3 次,计算浓度均值。将实测结果与理论结果进行拟合,得到拟合方程及线性相关系数 *r*。

1.2.4 抗类似物干扰 向 TSH 的校准品 C₀ 中,分别加入终浓度为 500 mIU/mL 的促黄体生成素(LH),500 mIU/mL 的促卵泡生成素(FSH)或 200 000 mIU/mL 的人绒毛膜促性腺激素(HCG),制成 3 种干扰样本。每个样本重复测定 2 次,计算 TSH 浓度均值。

1.2.5 抗内源性干扰 参照 CLIS EP7-A2,制备低、高值两个浓度的 TSH 混合血清样本,分别添加终浓度为 1 800 mg/mL 的三酰甘油,10 mg/dL 的胆红素,500 mg/dL 的血红蛋白或 10 g/dL 的人血清清蛋白,制成内源性干扰样本。空白对照样本则分别添加相同体积生理盐水(对内酯和血红蛋白干扰样本)、0.1 mol/L NaOH(对胆红素干扰样本)或无添加(对人血清清蛋白干扰样本)。将空白对照样本和对应的干扰样本各测试 3 次,计算样本浓度均值,并计算干扰样本与空白对照样本的浓度偏差。

1.2.6 精密度 参照 CLIS EP 5-A3,分别对 3 个水平的混合人血清和 2 个质控品进行检测。每天测试 2 批,2 批间间隔时间不少于 2 h,每批重复测试 2 次,持续 20 d。计算 TSH 试剂盒的精密度。

1.2.7 校准一致性 使用 2 批试剂,2 批校准品和 3 台分析仪组成 3 个组合,分别对迈瑞低值、高值甲功复合质控品(靶值分别为 0.76 和 39.09 μIU/mL)各重复测试 3 次,计算质控均值及其与靶值的偏差。

1.3 统计学处理 使用 Excel 2007 及 Variance Function Pro-

gram12.0 进行数据处理及分析。

2 结 果

2.1 最低检测限 测试结果见表 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。测得 TSH 最低检测限为 0.001 5 μIU/mL。

2.2 功能灵敏度 结果见图 1,TSH 试剂盒功能灵敏度为 0.013 μIU/mL。

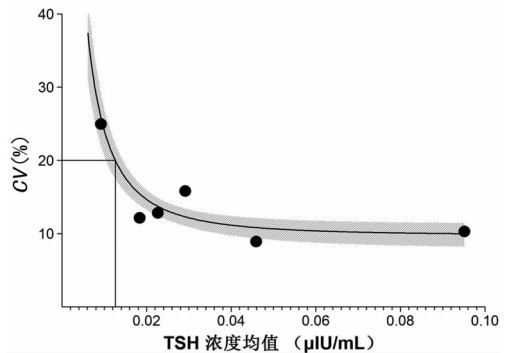


图 1 TSH 功能灵敏度

2.3 线性 测试结果见表 2,拟合方程为 $Y=0.986 X+0.195$,线性相关系数 $r=0.999$ 。

表 2 TSH 线性测试结果

样本	TSH 高值 样本比例(%)	实测浓度均值 (μIU/mL)	理论浓度 (μIU/mL)
TSH C ₀	0	0.00	0.00
稀释样本 1	20	18.67	19.79
稀释样本 2	40	40.77	39.58
稀释样本 3	60	60.25	59.37
稀释样本 4	80	81.30	79.16
TSH 高值血清	100	98.95	98.95

表 4 TSH 血清干扰测试结果

干扰物名称	干扰物浓度	对照样本浓度(μIU/mL)		干扰样本浓度(μIU/mL)		相对偏差(%)	
		低值	高值	低值	高值	低值样本	高值样本
胆红素	10 mg/dL	6.79	17.40	6.63	17.46	-2.36	0.34
血红蛋白	500 mg/dL	6.05	15.93	6.57	17.25	8.60	8.29
三酰甘油	1 800 mg/dL	6.65	17.66	6.24	16.44	-6.17	-6.91
人血清清蛋白	10 g/dL	6.30	16.18	5.97	15.87	-5.24	-1.92

表 5 TSH 精密度测试结果

样本	总均值(μIU/mL)	批内精密度		批间精密度		总不精密度	
		s(μIU/mL)	CV(%)	s(μIU/mL)	CV(%)	s(μIU/mL)	CV(%)
质控低值	0.83	0.02	1.95	0.02	2.29	0.04	4.85
质控高值	39.76	0.92	2.31	1.02	2.57	1.29	3.24
低值血清	6.43	0.23	3.51	0.22	3.45	0.34	5.34
中值血清	16.40	0.51	3.08	0.42	2.59	0.85	5.16
高值血清	48.69	1.41	2.91	1.17	2.40	2.26	4.65

2.4 抗类似物干扰 将表 3 浓度的 TSH 类似物分别加入 TSH 校准品 C₀ 中,测得的 TSH 浓度均小于 0.2 μIU/mL, 结果见表 3(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.5 抗内源性干扰 血清内源物对 TSH 测定结果的干扰介于一 6.91%~8.60%。测试结果见表 4。

2.6 精密度 使用 TSH 试剂盒测试 3 个混合血清样本和 2 个质控品,每天在 2 个不同时间段分别测试 2 次,持续 20 d 后共得到 80 个测试数据,测试结果见表 5。TSH 总不精密度介于 3.24%~5.34%。

2.7 校准一致性 使用 2 批试剂盒、2 批校准品和 3 台分析仪组成 3 个组合,测定低、高值质控的结果见表 6(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”),3 个组合的校准一致性介于一 6.58%~5.26%。

3 讨论

TSH 的检测通常是临床诊断甲状腺功能紊乱的首选指标。血液中游离甲状腺激素含量的轻微改变,都会通过负反馈引起 TSH 的较大变化。因此,TSH 的检测可以灵敏、特异地反映甲状腺功能,是评估下丘脑-垂体-甲状腺轴动态平衡的重要早期参数^[2-5]。

临床检验过程中,为采用通用指南对疾病进行诊断和治疗,理想情况下要求不同检测系统对临床样本检验结果一致并具有可比的参考范围。实现检测结果一致性,对逐步推行临床检验结果互认,提高医疗服务质量具有重要价值。2005 年,IFCC 成立甲状腺功能标准化工作组。2012 年,该组织升格为甲状腺功能标准化委员会,并在全球召集更多参与者推动一致性研究^[4]。IFCC 开展 TSH 一致性研究已达数年,目前正采用尽可能多的检测系统测试具有互换性的真实人血清样本,用所有检测结果的均值(APTM)替代参考测量程序实行一致性检测^[6-8]。

对于 TSH 这样具有重要临床价值的待测物,开展一致性研究必须获取可靠临床样本。这要求样本临床背景信息清晰可查,浓度分布涵盖特定范围并包含对临床判断有意义的点。样本要包括健康人样本、患者样本及相关的可能影响测试结果的干扰样本^[9]。有研究曾使用 9 个制造商的 16 种 TSH 免疫试剂盒,对 40 个血清样本进行检测^[7-10]。结果表明,16 种试剂盒的批内精密度和总精密度分别为 1.5%~5.5% 和 2.5%~7.7%。其中 13 种试剂盒检测结果与 APTM 相差小于 10%,在中间浓度范围(0.05~5.00 mIU/L),大部分试剂盒比对较好。但也有少数 TSH 试剂盒在低浓度范围(0.03~0.05 mIU/L)相对于 APTM 有明显负偏差。在有临床价值的浓度范围(<0.05 mIU/L 和 >5.00 mIU/L),一种试剂盒表现出高达 -21%~-33% 的负偏差,另一种试剂盒则表现出 8%~12% 的正偏差。这一结果表明,不同的 TSH 检测试剂盒间测试结果差异明显。通过重新校准,不同检测系统的 TSH 测值分布离散性减少,中间浓度范围的精密度由 9.1% 改善到

5.9%。由此可见,不同 TSH 检测试剂盒可通过一组患者血清样本进行校准,实现检测一致性。

通过对迈瑞全自动化学发光免疫检测系统 CL2000i TSH 试剂盒的测定,其最低检测限、功能灵敏度、线性、分析特异度、抗内源性干扰、精密度和校准一致性均满足行业标准和临床使用需求,满足 IFCC 检测系统方法学比对第 1 期研究的性能要求,为 TSH 项目的 IFCC 检测系统国际溯源一致性第 2 期研究奠定了基础。

参考文献

- [1] Van Uytvanghe K, Linde A, Thienpont LM. A “Step-Up” approach for harmonization[J]. Clin Chim Acta, 2014, 432(1): 62-67.
- [2] Surks MI, Chopra IJ, Mariash CN, et al. American thyroid association guidelines for the use of laboratory tests in thyroid disorders [J]. JAMA, 1990, 263(1): 1529-1532.
- [3] Keffer JH. Preanalytical considerations in testing thyroid function [J]. Clin Chem, 1996, 42(1): 125-135.
- [4] Ladenson PW. Optimal laboratory testing for diagnosis and monitoring of thyroid nodules, goiter and thyroid cancer [J]. Clin Chem, 1996, 42(1): 183-187.
- [5] Nicoloff JT, Spencer CA. The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1990, 71(1): 553-558.
- [6] Van Houcke SK, Van Aelst S, Van Uytvanghe K, et al. Harmonization of immunoassays to the all-procedure trimmed mean-proof of concept by use of data from the insulin standardization project [J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(5): 103-105.
- [7] Thienpont LM, Van Houcke SK. Traceability to a common standard for protein measurements by immunoassay for in-vitro diagnostic purposes [J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(23): 2058-2061.
- [8] Thienpont LM, Van Uytvanghe K, Van Houcke S. Standardization activities in the field of thyroid function tests: a status report [J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(11): 1577-1583.
- [9] Van Houcke SK, Thienpont LM. “Good samples make good assays” the problem of sourcing clinical samples for a standardization project [J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(5): 967-972.
- [10] Thienpont LM, Van Uytvanghe K, Beastall G, et al. Report of the IFCC Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests: part 1: thyroid-stimulating hormone [J]. Clin Chem, 2010, 56(6): 902-911.

(收稿日期:2015-11-02)



(上接第 495 页)

- [8] 何亚萍, 乔国显, 张国栋, 等. 乳糜血不同前处理方法对光学法凝血指标检测结果的影响 [J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(1): 119-121.
- [9] 卢美红, 景蓉蓉. 分析前处理对比浊法凝血仪检测结果的影响 [J]. 海南医学, 2012, 23(18): 80-82.
- [10] 柳东升, 李倩. 凝血四项检测结果影响因素的分析 [J]. 中外医学

研究, 2013, 11(23): 83.

(收稿日期:2015-10-22)

