

两种检测降钙素原方法的比较研究

杨 丹, 叶志成, 徐 锦[△]

(复旦大学附属儿科医院临床检验中心, 上海 201102)

摘要:目的 采用循环增强荧光免疫法和电化学发光法定量检测降钙素原(PCT), 对其检测结果的一致性进行比较分析。方法 以电化学发光法为对比方法, 循环增强荧光免疫法为实验方法, 用两种方法分别检测 219 例住院患者的样本。循环增强荧光免疫法检测的血清组(Core 血清组)结果、微量全血组(Core 微量全血组)结果与电化学方法检测的血清组(Roche 血清组)结果进行两两进行配对 *t* 检验和相关性分析, 计算在医学决定水平(0.5 ng/mL 与 2.0 ng/mL)的相对灵敏度、相对特异性、约登指数并进行 Kappa 一致性检验。结果 Core 血清组、Core 微量全血组与 Roche 血清组三者之间比较均无统计学差异($P > 0.05$)。Core 血清组与 Roche 血清组呈正相关($r = 0.993, P < 0.01$), 一元直线回归方程为 $Y = -0.061 + 1.041X (0.04 \leq X \leq 60)$ 。Core 微量全血组与 Roche 血清组成正相关($r = 0.989, P < 0.01$), 一元直线回归方程为 $Y = 0.022 + 1.023X (0.04 \leq X \leq 60)$ 。Core 血清组和 Core 微量全血组呈正相关($r = 0.986, P < 0.01$), 一元直线回归方程为 $Y = 0.129 + 0.973X (0.04 \leq X \leq 60)$ 。三个对比组在医学决定水平(0.5 ng/mL 和 2.0 ng/mL)的相对灵敏度均大于 92%, 相对特异性均大于 95%, 约登指数与 Kappa 值均大于 0.9, 表明一致性较好。结论 循环增强荧光免疫法与电化学发光法检测结果具有很好的一致性, 符合临床检测要求。

关键词: 降钙素原; 循环增强荧光免疫法; 电化学发光法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.05.020

中图法分类号: R446.6

文章编号: 1673-4130(2018)05-0588-04

文献标识码: A

A comparative study of two methods for detecting procalcitonin

YANG Dan, YE Zhicheng, XU Jin[△]

(Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201102, China)

Abstract: Objective To use cyclic amplified fluorescence immunoassay method and electrochemiluminescence immunoassay method for quantitative detection of procalcitonin (PCT), and to evaluate the consistency of the test results. **Methods** With the method of electrochemiluminescence used as the contrast method and the cyclic enhanced fluorescence immunoassay method used as experimental method, samples of 219 hospitalized patients were measured in two ways. The results were divided into three groups: the serum group (Core serum group) and the micro blood group (Core micro blood group) which were detected in cyclic amplified fluorescence immunoassay method and the serum group (Roche serum group) which was detected by electrochemiluminescence immunoassay method. The data of three groups were compared with each other in paired *t* test, and correlation analysis, the relative sensitivity, the relative specificity, and Jorden index at the medical decision level (0.5 ng/mL and 2.0 ng/mL) were calculated and the Kappa Consistency Test was calculated.

Results There were no statistical differences in three groups ($P > 0.05$). The Core serum group was positively correlated with the Roche serum group ($r = 0.993, P < 0.01$). The linear regression equation was $Y = -0.061 + 1.041X (0.04 \leq X \leq 60)$. The Core micro blood group was positively correlated with the Roche serum group ($r = 0.989, P < 0.01$). The linear regression equation was $Y = 0.022 + 1.023X (0.04 \leq X \leq 60)$. The Core micro blood group was positively correlated with the Core serum group ($r = 0.986, P < 0.01$). The linear regression equation was $Y = 0.129 + 0.973X (0.04 \leq X \leq 60)$. The relative sensitivity of the three comparison groups was greater than 92% and the relative specificity was greater than 95% at the medical decision level (0.5 ng/mL and 2.0 ng/mL), and the Jorden index and Kappa values were greater than 0.9. It indicated a better consistency. **Conclusion** Cyclic amplified fluorescence immunoassay and electrochemiluminescence immu-

作者简介: 杨丹, 男, 检验技师, 主要从事临床检验研究。 [△] 通信作者, E-mail: jin030101@aliyun.com.

本文引用格式: 杨丹, 叶志成, 徐锦. 两种检测降钙素原方法的比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(5): 588-590.

noassay detection results were very consistent, which meet the clinical testing requirements.

Key words: procalcitonin; cyclic amplified fluorescence immunoassay method; electrochemiluminescence immunoassay method

降钙素原(PCT)是细菌感染的特异性指标,对临床的诊疗具有重要的意义^[1]。目前,复旦大学附属儿科医院采用 Roche 公司电化学发光分析系统来检测 PCT,但 Roche 电化学发光系统只适用于检测血清,要求标本必须是静脉血,不适用于门急诊特别是儿科门急诊微量血的常规检测。现星童医疗技术(苏州)有限公司生产的循环增强荧光分析仪能够检测血清和微量全血标本,但其检测性能均不清楚。此研究的目的是为了探讨两种检测系统的检测结果是否具有-致性,为该院急诊推广微量全血 PCT 的常规检测提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2015 年 11 月 3 日至 2016 年 12 月 30 日至该院行 PCT 检测的住院患者纳入本研究。cobas e411 型电化学发光分析仪的检测值作为 Roche 血清组,Pylon Core 型循环增强荧光分析仪的检测值分别作为 Core 血清组和 Core 微量全血组。如果剩余血清量不够不足以检测,定为 Core 血清值缺失,当天无微量全血样本定为 Core 微量全血值缺失。样本当天采集当天测定,以此法共分析了 219 例血清样本,其中 Core 血清值缺失 21 例,Core 微量全血值缺失 6 例。

1.2 仪器与试剂 实验组试剂盒为 PCT 定量检测试剂盒(循环增强荧光免疫法),及配套 Pylon Core 型循环增强荧光分析仪,由星童医疗技术(苏州)有限公司生产。用于对照的试剂盒为 PCT 检测试剂盒(电化学发光法),及配套 cobas e411 型电化学发光分析仪,由 Roche 公司生产。

1.3 方法 当天留取 Roche cobas e411 检测 PCT 结束后的剩余血清,要求 PCT 检测值在循环增强荧光免疫法的线性范围之内(该方法线性范围为 0.04~60 ng/mL, Roche 线性范围为 0.02~100 ng/mL),超出循环增强荧光免疫法线性范围之外的样本不留取。另外留取该患者当天的微量全血样本,然后用 Pylon Core 型循环增强荧光分析仪分别检测。实验方法为循环增强荧光免疫法,比对方法为电化学发光法,分别按照各自厂家的操作说明书操作。实验前均对检测系统进行校准和质控,确保在控时方进行实验,以此保证数据的准确性。将三组检测进行两两比较:Roche 血清组 vs. Core 血清组时, Roche 血清组为对照组, Core 血清组为实验组; Roche 血清组 vs. Core 微量全血组时, Roche 血清组为对照组, Core 微量全血组为实验组; Core 血清组 vs. Core 微量全血组时,

Core 血清组为对照组, Core 微量全血组为实验组。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件和 Excel 2003 软件进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用配对 *t* 检验,及两变量的相关和回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计算在医学决定水平(0.5 ng/mL 与 2.0 ng/mL)的相对灵敏度,相对特异度^[2],约登指数。应用 Kappa 一致性检验判定两种检测方法的一致性。以 $Kappa \geq 0.75$ 表示两者一致性较好, $0.40 \leq Kappa < 0.75$ 表示一致性一般, $Kappa < 0.40$ 表示两者一致性较差^[2]。

2 结果

2.1 配对样本 *t* 检验结果 三组比较中均 $P > 0.05$,表明各组内数据差异无统计学意义,见表 1。

表 1 三组检测值的比较

分组及比较	<i>n</i>	均值	<i>P</i>
Roche 血清组 vs. Core 血清组			0.528
Roche 血清组	198	2.56 ± 7.61	
Core 血清组	198	2.60 ± 7.98	
Roche 血清组 vs. Core 微量全血组			0.317
Roche 血清组	213	2.42 ± 7.36	
Core 微量全血组	213	2.50 ± 7.61	
Core 血清组 vs. Core 微量全血组			0.559
Core 血清组	192	2.67 ± 8.10	
Core 微量全血组	192	2.72 ± 7.98	

2.2 相关性分析结果 Roche 血清组与 Core 血清组的检测值呈正相关($r = 0.993, P < 0.01$),一元直线回归方程为 $Y = -0.061 + 1.041X (0.04 \leq X \leq 60)$ 。Roche 血清组与 Core 微量全血组呈正相关($r = 0.989, P < 0.01$),一元直线回归方程为 $Y = 0.022 + 1.023X (0.04 \leq X \leq 60)$ 。Core 血清组与 Core 微量全血组呈正相关($r = 0.986, P < 0.01$),一元直线回归方程为 $Y = 0.129 + 0.973X (0.04 \leq X \leq 60)$ 。 r 均大于 0.975,表明 X 的取值可靠,误差对回归估计的影响可以忽略不计。

2.3 一致性判断

2.3.1 医学决定水平的相对灵敏度、相对特异性以及约登指数 三组在医学决定水平的相对灵敏度均大于 92%,相对特异性均大于 95%,约登指数均大于 0.9。见表 2、3。两种方法的总符合率很高,循环增强荧光免疫法血清通道与微量全血通道检测值总符合率也很高。

表 2 以 0.5 ng/mL 为 cut-off 值统计分析结果

比较的组别	n	PCT _{实验组} < 0.5 且	PCT _{实验组} < 0.5 且	PCT _{实验组} ≥ 0.5 且	PCT _{实验组} ≥ 0.5 且	相对灵敏度 (%)	相对特异性 (%)	约登指数
		PCT _{对照组} < 0.5	PCT _{对照组} ≥ 0.5	PCT _{对照组} < 0.5	PCT _{对照组} ≥ 0.5			
Roche 血清组 vs. Core 血清组	198	132	4	4	58	93.55	97.06	0.906
Roche 血清组 vs. Core 微量全血组	213	143	5	3	62	92.54	97.95	0.905
Core 血清组 vs. Core 微量全血组	192	126	1	6	59	98.33	95.45	0.938

表 3 以 2.0 ng/mL 为 cut-off 值统计分析结果

比较的组别	n	PCT _{实验组} < 2.0 且	PCT _{实验组} < 2.0 且	PCT _{实验组} ≥ 2.0 且	PCT _{实验组} ≥ 2.0 且	相对灵敏度 (%)	相对特异性 (%)	约登指数
		PCT _{对照组} < 2.0	PCT _{对照组} ≥ 2.0	PCT _{对照组} < 2.0	PCT _{对照组} ≥ 2.0			
Roche 血清组 vs. Core 血清组	198	163	1	1	33	97.06	99.39	0.965
Roche 血清组 vs. Core 微量全血组	213	175	3	0	35	92.11	100.00	0.921
Core 血清组 vs. Core 微量全血组	192	155	0	3	34	100.00	98.10	0.981

2.3.2 Kappa 一致性检验结果 分别以 0.5 ng/mL 和 2.0 ng/mL 为 cut-off 值计算三个比较组的 Kappa 值,并判定一致性程度高低。见表 4。结果表明三组的一致性程度均是高度一致。

表 4 Kappa 值与一致性程度判定结果

比较的组别	n	Kappa ₁	Kappa ₂	一致性评判
Roche 血清组 vs. Core 血清组	198	0.906	0.964	较好
Roche 血清组 vs. Core 微量全血组	213	0.912	0.950	较好
Core 血清组 vs. Core 微量全血组	192	0.917	0.948	较好

注:Kappa₁ 以 0.5 ng/mL 为 cut-off 值;Kappa₂ 以 2.0 ng/mL 为 cut-off 值

3 讨 论

PCT 是一种由 116 个氨基酸组成、相对分子质量为 12.7×10^3 的糖蛋白,是降钙素的前肽物,无激素活性。PCT 由神经内分泌细胞(包括甲状腺、肺和胰腺组织的 C 细胞)表达,经酶切分解为(未成熟)降钙素、羧基端肽和氨基端肽^[3]。在健康人的血液中, PCT < 0.1 ng/mL^[4],而在病理情况下(如被细菌感染后)PCT 会明显升高,甚至可以升高至 100 ng/mL 以上^[5]。长期以来,白细胞计数、超敏 C 反应蛋白以及中性粒细胞计数等指标一直被作为传统评判细菌感染的指标,但受各方面因素的影响,这些指标已经被证明并不具有高度的特异性,且对抗菌药物使用的指示作用非常有限^[6]。PCT 对于快速鉴别感染与非感染所致的炎症反应具有重要的意义^[7-8],可作为抗生素选择以及疗效判断的指标,极大地缩短了抗菌药物的使用时间^[9-10]。开展常规检测 PCT 对临床的诊疗具有非常大的帮助。

本实验主要是研究星童公司研发的循环增强荧光免疫法检测结果与 Roche 电化学发光方法结果是否一致。循环增强荧光免疫法作为实验方法,它的主要原理是基于自主研发的循环增强荧光免疫平台,以石英针作为 PCT 抗体 1 的固相基质,以装有 PCT 抗

体 2、荧光物质 Cy5 及洗涤剂的试剂条作为反应主体,辅以相应的 PCT 校准品、质控品、复溶液等,采用双抗体夹心的方法,运用生物传感器经过多次捕获、反应和清洗流程,使生物传感器对同一样本进行多次反应,导致荧光信号循环累积而不断增强,由光学信号转换为数字信号,信号强度与 PCT 浓度呈正比。Roche 电化学发光法作为对比方法,它的工作原理是待检样本与生物素化的单克隆 PCT 抗体以及钆复合物标记的单克隆 PCT 抗体一起孵育,形成抗原抗体夹心复合物。加入包被链霉亲和素的磁珠微粒进行孵育,复合体与磁珠通过生物素和链霉素的作用结合。通过电磁作用将磁珠吸附在电极表面。未与磁珠结合的物质通过清洗液被去除,给电极加压,使复合体发光,并通过光电倍增器测量发光强度^[2],发光强度与 PCT 浓度呈正比。

从分析结果上面来看,三组的组内比较均无统计学差异($P > 0.05$),且高度相关,在医学决定水平的符合率很高,Kappa 一致性评判较好。因此,循环增强荧光免疫法血清及微量全血通道检测结果与电化学发光血清通道检测结果具有很好的一致性,且新方法内部两个通道检测值也具有很好的一致性,符合临床检测要求。

Pylon Core 型循环增强荧光分析仪可检测血清及微量全血标本,操作简便,30 min 即可得到检验结果。在保证较高的灵敏度和特异性的条件下,与 Roche 同类分析仪具有高度的一致性,能够满足儿科门诊急诊微量采血开展常规检测 PCT 的要求。

参考文献

[1] 刘息平,芦嘉,陈雪琴,等.血清降钙素原在危重患者细菌感染检测中的应用[J].中国现代医药杂志,2008,10(3): 29-31.
 [2] 范华杰,张鹏,唐古生,等. Roche 降钙素原电化学发光法定量检测试剂盒的临床性能评价[J].检(下转第 594 页)

西格玛管理理念被广泛应用于各领域,西格玛管理的目标是消除或降低过程中的变异^[2,6],六西格玛尺度一般分是 0~6,达到六西格玛大约百万个产品中有 3 个缺陷^[1]。在计算西格玛的过程中,主要变量有 TEa、CV 和 Bias, CV 和 Bias 可以通过实验计算得出,而 TEa 则是质量的规范,在 CV 和 Bias 相同的情况下,引用不同的质量规范所计算得出的西格玛值不同^[11-12]。因此各实验室应结合实际情况,选择合适的质量规范。目前可应用的质量要求和目标主要有:(1)由国家卫计委所制定的中华人民共和国卫生行业标准;(2)美国实验室实施的临床实验室改进修正案(CLIA)能力验证指南;(3)Carman Ricos 教授及其同事提供的持续更新的生物学变异数据库;(4)ISO15189 提供的分析检测指南等^[2]。良好的精密度是进行其他方法学验证的前提,精密度验证的方法较多,原则上累积的数据越多,精密度越接近真实值。批内精密度和批间精密度应各不少于 20 个数据^[3]。有条件的实验室可以采用美国临床和实验室标准研究院(CLSI)发布的 EP05-A2 对精密度进行评价。正确度评价的常用方法有:(1)与决定性方法或参考方法进行比对;(2)参加外部室间质量评价;(3)与其他实验室进行比对;(4)测定定值质控品或标准品等^[3]。

4 种试剂盒通过检测,精密度和正确度均小于试剂盒说明书申明的范围,但是通过西格玛的计算,能明显看出,A、B 试剂盒的性能只能达到良好水平,而 C、D 试剂盒为世界一流水平,通过 QGI 计算得出导致 A、B 试剂盒西格玛水平较低的主要原因是精密度差。本研究为小样本的研究,可能会导致更乐观的估计和较高的西格玛值,实际使用中的结果可能会低于此方法评估的结果,选择试剂盒时应预留更大的性能范围^[12]。总体来看,西格玛理论用于试剂的初步评价能直观地体现出试剂性能之间的差别,通过西格玛值计算初步选择出目标试剂盒后再进行详细评价,可节省很大一部分工作量和成本,此法可作为一种工具应用于临床工作中。

(上接第 590 页)

验医学,2010,25(8):654-658.

- [3] MEISNER M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin [J]. Clin Chim Acta, 2002, 323(1/2):17-19.
- [4] GENDREL D, BOHUON C. Procalcitonin as a marker of bacterial infection [J]. Pediatr Infect Dis J, 2000, 19(8): 679-688.
- [5] ASSICOT M, GENDREL D, CARSIN H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection [J]. Lancet, 1993, 341(8844):515-518.
- [6] 张庆勇, 鲜胜, 曾晶晶, 等. 细菌感染中 WBC、N%、CRP 及 PCT 检测的比较分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(3):289-290.

参考文献

- [1] BERTOLACCINI L, VITI A, TERZI A. The statistical point of view of quality: the lean six sigma methodology [J]. J Thorac Dis, 2015, 7(4): E66-E68.
- [2] 张路, 王治国. 六西格玛度量在实验室性能评价和质量控制设计中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(17): 2613-2614.
- [3] 毕波, 吕元. 定量检测方法学性能验证的系统设计 [J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2):143-145.
- [4] 赵彦, 康凤凤, 王薇, 等. 同型半胱氨酸不同检测方法结果分析 [J]. 检验医学, 2015, 30(3):284-286.
- [5] 肖亚玲, 王薇, 赵海建, 等. 西格玛性能验证图在常规化学检测项目性能评价中的应用 [J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(4):159-162.
- [6] SCHWEIKHART S A, DEMBE A E. The applicability of Lean and Six Sigma techniques to clinical and translational research [J]. J Investig Med, 2009, 57(7): 748-755.
- [7] 赵海建, 张传宝, 周伟燕, 等. 应用六西格玛管理方法评价脂类检验项目质量水平 [J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(4):311-314.
- [8] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版. 南京:东南大学出版社, 2008.
- [9] CLSI. Defining, Establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline C28-A3 [S]. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [10] 费阳, 王薇, 王治国. 临床检验室内质量控制规则设计新工具-Westgard 西格玛规则 [J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(1):149-152.
- [11] FRIEDECKY B, KRATOCHVILA J, BUDINA M. Why do different EQA schemes have apparently different limits of acceptability [J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(4): 743-745.
- [12] 张路, 王薇, 王治国. 允许总误差在西格玛度量用于评价临床化学检测项目分析质量上的应用研究 [J]. 检验医学, 2015, 30(9):953-957.

(收稿日期:2017-09-11 修回日期:2017-11-18)

- [7] 乔维洲, 杨婷婷, 杨芸芸. 降钙素原对新生儿脓毒症的诊断意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(7):913-914.
- [8] 陈兰刚, 邓耀明. PCT、PA 和 WBC 检测在儿童感染性疾病中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(1):35-36.
- [9] 董慧敏, 宋志兴, 朱远航, 等. 联合检测降钙素原和 C-反应蛋白在指导术后感染抗生素应用的价值 [J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(3):375-377.
- [10] 董亮, 李朗, 张秀红, 等. 降钙素原导向的抗生素使用对重症患者抗感染疗效及预后影响的 Meta 分析 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2016, 15(5):437-441.

(收稿日期:2017-09-20 修回日期:2017-11-10)