

## 化学发光微粒免疫分析技术检测输血四项的性能评估\*

刘立民, 李 钰, 蒙雨明, 戴盛明 (广西医科大学第四附属医院检验科, 广西柳州 545005)

**摘要:**目的 验证和评价雅培 ARCHITECT-i2000SR 化学发光分析仪检测乙肝表面抗原(HBsAg)、抗人类免疫缺陷病毒(HIV)、抗梅毒螺旋体(TP)、抗丙型肝炎病毒(HCV)抗体的性能。方法 对 ARCHITECT-i2000SR 的精密度、污染携带、参考区间、分析测量范围进行验证;化学发光微粒免疫分析(CMIA)和 ELISA 法检测相同标本,进行方法学比对。结果 HBsAg, HIV, TP, HCV 抗体的精密度、携带污染和 HBsAg 参考区间均符合 ARCHITECT-i2000SR 的性能标准;HBsAg 线性回归:  $Y = 1.102X - 6.6786$  ( $r = 0.9955$ ,  $P < 0.05$ ), HBsAg 线性范围为:  $1.08 \sim 208.6$  IU/ml;两种方法检测输血前四项结果的一致性为优。结论 ARCHITECT-i2000SR 检测输血前四项的主要性能验证结果与厂家声明的范围基本一致,可用于临床样本的检测。

**关键词:**化学发光;性能验证;方法学比对

中图分类号: R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)02-107-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.033

## Performance Verification of Chemiluminescent Microparticle Immunoassay for the Four Blood Index

LIU Li-min, LI Yu, MENG Yu-ming, DAI Sheng-ming (Department of Clinical Laboratory, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Liuzhou 540005, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the analytical performance of ARCHITECT-i2000SR chemiluminescence analyzer in detection of HBsAg, HIV-antibody, TP-antibody and HCV-antibody. **Methods** Validated the precision, carryover, reference interval of alpha-fetoprotein and linearity performance of ARCHITECT-i2000SR. The same specimens were tested by both CMIA and ELISA, and the results were compared and analyzed. **Results** The precision, carryover and reference interval of alpha-fetoprotein of HBsAg, HIV-antibody, TP-antibody and HCV-antibody were within the range provided by the manufacturer for ARCHITECT-i2000SR. The theoretical and measured values of HBsAg were:  $Y = 1.102X - 6.6786$  ( $r = 0.9955$ ,  $P < 0.05$ ), the range of linearity  $1.08 \sim 208.6$ . The result was very good for the four blood index by both methods. **Conclusion** The basic performances of ARCHITECT-i2000SR were consistent with the data provided by the manufacturer, so it can be used to inspect the clinical samples and the results were credible.

**Keywords:** chemiluminescence; performance verification; comparative methodology

美国雅培公司的 ARCHITECT-i2000SR 全自动化学发光免疫分析仪是基于化学发光微粒免疫分析(chemiluminescent microparticle immunoassay, CMIA)检测技术的全自动免疫分析系统,可用于定量或定性测定人血清、血浆中病毒抗原、抗体等成分。输血前四项通常包括乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)、人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、梅毒螺旋体(treponema pallidum, TP)和丙型肝炎病毒(hepatitis c virus, HCV),在输血引起的不良反应及传播输血相关疾病具有重要作用。本实验室根据《医疗机构临床实验室管理办法》和《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO15189:2012)的要求,结合实际工作环境,对 ARCHITECT-i2000SR 的精密度、污染携带、参考区间、分析测量范围和方

法学比对进行验证和评价,具体如下:

### 1 材料和方法

1.1 主要材料 ARCHITECT-i2000SR(美国雅培), 常温低速离心机(湖南湘仪), 临床血清标本, 乙肝表面抗原 ELISA 检测试剂盒(厦门新创批号 2013076612), 抗人类免疫缺陷病毒 ELISA 检测试剂盒(厦门新创批号 2013096617), 抗梅毒螺旋体 ELISA 检测试剂盒(厦门新创批号 2013057509), 抗丙型肝炎病毒 ELISA 检测试剂盒(厦门新创批号 2013075811), 乙肝表面抗原 CMIA 检测试剂盒(ABBOTT 批号 29575LF00), 抗人类免疫缺陷病毒 CMIA 检测试剂盒(ABBOTT 批号 30509LI00), 抗梅毒螺旋体 CMIA 检测试剂盒(ABBOTT 批号 28133LP25), 抗丙型肝炎病毒 CMIA 检测试剂盒(ABBOTT 批号 33733LI00)

\* 作者简介:刘立民(1984-),男,医学硕士,研究方向:临床免疫诊断,E-mail:jiuxianzi@sina.com。

通讯作者:戴盛明,E-mail:daishm@sina.com。

等。

1.2 方法 对仪器执行每日保养,质控结果在可接受的前提下,严格按照仪器和试剂说明书进行实验操作。

### 1.2.1 精密度试验

1.2.1.1 批内 CV 值:在条件稳定的情况下,对高低两个浓度的血清标本,分别连续进行 20 次的重复检测,计算其浓度(IU/ml)的均值,  $s$  与 CV,评价方案按照 EP-A2 进行。

1.2.1.2 批间 CV 值在条件稳定的情况下,对高低两个浓度的血清标本,每天连续 4 次检测,总共进行 5 天的检测(每批间隔时间为 24 h),得到 20 份原始数据,分别计算其浓度(IU/ml)的均值,  $s$  与 CV,评价方案按照 EP-A2 进行。

### 1.2.2 污染携带验证

1.2.2.1 取高浓度样本(H)和低浓度样本(L)各一份,将高浓度样本分成 10 份,低浓度样本分成 11 份,21 份样本按如下顺序,连续测定 L1, L2, L3, H1, H2, L4, H3, H4, L5, L6, L7, L8, H5, H6, L9, H7, H8, L10, H9, H10, L11。

1.2.2.2 携带污染 = High-Low 的均值 - Low-Low 的均值,携带污染 < 3 倍 Low-Low 的  $s$  则验证通过。

1.2.3 参考区间验证:收集本院 20 例体检 HBsAg 为阴性结果的样本进行测试,测定的结果与试剂说明书给定的参考区间比对,如果 20 例参考个体中不超过 2 例的观察值在原始报告的区间之外,商家提供的参考区间的实验报告可接受。若有 3 例以上超出界限,再选择 20 例参考个体进行验证,若不超过 2 例观测值超过原始参考限,商家提供的参考区间的实验报告可接受。若又有 3 例以上超过参考限,用户就该重新检查所用的分析程序,并考虑是否按照大规模研究指南建立自己的参考区间。本实验说明书的参考区间 < 0.05 IU/ml。

1.2.4 分析测量范围验证:选取厂家声称的分析测量上限和下限的 20% 左右浓度的样本配成 6 个样本浓度。每个浓度重复测定 3 次,取均值:见表 1。

表 1 HBsAg 低高浓度体积比例表

样本号	1	2	3	4	5	6
低浓度样本(L)	1L	0.8L	0.6L	0.4L	0.2L	1H
高浓度样本(H)	0L	0.2H	0.4H	0.6H	0.8H	0H

将所得各浓度均值进行线性回归分析,得出测量值与预测值的线性关系。

1.2.5 方法学比对:临床诊断符合实验要求的血清标本,分别选取临床诊断确诊 HBV, HIV, TP 和 HCV 的阳性标本 50 例和阴性标本 50 例,分别使

用 CMIA 和 ELISA 法检测系统进行检测,将所得的检测结果进行 Kappa 一致性检验,按计算出的 K 值来判断结果的一致性。

## 2 结果

2.1 精密度验证结果 HBsAg 高浓度批内 CV 5.6%,批间 CV 6.3%,低浓度批内 CV 7.0%,批间 CV 8.9%;Anti-HIV 高浓度批内 CV 3.6%,批间 CV 2.3%,低浓度批内 CV 2.8%,批间 CV 3.3%;Anti-TP 高浓度批内 CV 1.6%,批间 CV 2.0%,低浓度批内 CV 2.7%,批间 CV 3.5%;Anti-HCV 高浓度批内 CV 2.6%,批间 CV 4.5%,低浓度批内 CV 3.3%,批间 CV 7.1%。

2.2 携带污染验证结果 HBsAg 携带污染 =  $-0.004 < 0(3s)$ ; Anti-HIV 携带污染 =  $0.040 < 0.140(3s)$ ; Anti-TP 携带污染 =  $0.002 < 0.012(3s)$ ; Anti-HCV 携带污染 =  $0 < 0.016(3s)$ 。

2.3 HBsAg 参考区间的验证 检测的 20 例样本的测定浓度均是 < 0.05 IU/ml。

2.4 HBsAg 分析测量范围验证结果  $r = 0.9955$ ,回归方程为  $Y = 1.102X - 6.6786$ 。

2.5 输血前四项方法学比对结果 见表 2~5。

表 2 CMIA 法和 ELISA 法检测 HBsAg( $n=50$ )

项 目	CMIA 法	
	反应性	无反应性
ELISA 法	反应性	50
	无反应性	0

表 3 CMIA 法和 ELISA 法检测 Anti-HIV( $n=50$ )

项 目	CMIA 法	
	反应性	无反应性
ELISA 法	反应性	50
	无反应性	0

表 4 CMIA 法和 ELISA 法检测 Anti-TP( $n=50$ )

项 目	CMIA 法	
	反应性	无反应性
ELISA 法	反应性	47
	无反应性	3

表 5 CMIA 法和 ELISA 法检测 Anti-HCV( $n=50$ )

项 目	CMIA 法	
	反应性	无反应性
ELISA 法	反应性	48
	无反应性	2

CMIA 法和 ELISA 法检测 HBsAg 具体比对结果为:阳性符合率 = 100%,阴性符合率 = 100%,总符合率 = 100%, $K = 1$ ;一致程度 95% 可信区间为 [96.30%, 100%]。CMIA 法和 ELISA 法检测 Anti-HIV 具体比对结果为:阳性符合率 = 100%,

阴性符合率=100%,总符合率=100%, $K=1$ ;一致程度 95% 可信区间[96.30%,100%]。CMIA法和ELISA法检测TP具体比对结果为:阳性符合率=94%,阴性符合率=98%,总符合率=96%, $K=0.90$ ;一致程度 95% 可信区间为[90.16%,98.44%]。CMIA法和ELISA法检测HCV具体比对结果为:阳性符合率=96%,阴性符合率=98%,总符合率=97%, $K=0.94$ ;一致程度 95% 可信区间为[91.11%,99.41%]。

3 讨论 HBsAg, HIV, TP和HCV是输血前必须要检测的血清抗原。随着血清标志物检测方法学的发展,临床对输血前四项检验的快速、准确性提出了更高的要求。雅培厂家的性能参数是在其合适的环境下测定得到的与我实验室实际的外部条件存在差异,因此,本实验室在使用ARCHITECT-i2000SR日常检测前必须要对其分析性能进行验证和评价<sup>[1,2]</sup>。

精密度是指在规定的条件下,重复检测样本的结果一致程度,是检测系统的基本分析性能指标之一<sup>[3]</sup>。本研究结果显示,ARCHITECT-i2000SR分析仪检测HBsAg批内和批间不精密度(CV%)均符合厂商要求(7.8%和11.9%);Anti-HIV批内和批间不精密度(CV%)均符合厂商要求(4.76%和6.01%);Anti-TP批内和批间不精密度(CV%)均符合厂商要求(6.1%和8.1%);Anti-HCV批内和批间不精密度(CV%)均符合厂商要求(5.6%和8.4%),说明该仪器检测的重复性好。

携带污染是指小样本携带即引起污染的临床项目,本实验室的HBsAg携带污染是 $-0.004 < 0$ (3 s);Anti-HIV携带污染是 $0.040 < 0.140$ (3 s);Anti-TP携带污染是 $0.002 < 0.012$ (3 s);Anti-HCV携带污染是 $0 < 0.016$ (3 s),四个项目的携带污染率均在实验的可接受范围。

20例抽样样本来源于我院体检中心不同性别、不同年龄的健康个体<sup>[4,5]</sup>,ARCHITECT-i2000SR分析仪测定其HBsAg的数值都是 $<0.05$  IU/ml,符合厂家提供的生物参考区间范围。

分析测量范围验证结果表明HBsAg测量值与预期值的相关系数 $r=0.9955 > 0.95$ ,两者相关性很好,符合临床接受范围<sup>[6]</sup>。本实验所涉及的浓度范围内(1.08~208.6 IU/ml)是线性关系,符合厂家声称的0.05~250 IU/ml范围。如果实际测量样本HBsAg含量 $<0.05$  IU/ml的样本,直接发报告为“无反应结果”;如果实际测量样本的HBsAg含量超过250 IU/ml的样本结果可发报告为“ $>250$  IU/ml”;或者可以使用手工稀释模式对其进行稀释测得具体的含量。

方法学比对一致是实验室管理中实现质量目标的重要依据,应尽量保证检测结果的一致性,亦可以降低医疗纠纷发生率。本研究分别用ARCHITECT-i2000SR分析仪和ELISA方法同时检测了100例符合实验要求的样本,采用Kappa检验统计检测各个项目的结果一致性为优,说明从方法学角度来讲,两者的一致程度高<sup>[7,8]</sup>。

综上所述,本研究对ARCHITECT-i2000SR分析仪厂家提供的HBsAg, Anti-HIV, Anti-TP和Anti-HCV精密度、污染携带、方法学比对,HBsAg参考区间、分析测量范围进行验证和评价<sup>[9]</sup>。各项结果与厂家声明的分析性能基本一致。CMIA法检验可以在实验室推广,并为临床提供详实、准确、可靠的依据。

#### 参考文献:

- [1] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2版. 上海:上海科学技术文献出版社,2007:57-109.  
Feng RF. The base of clinical laboratory quality management technology[M]. 2th Ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Literature Press, 2007: 57-109.
- [2] 张莉, 吴炯, 郭玮, 等. 医学检验检测系统应用前的性能评价[J]. 检验医学, 2006, 21(6): 560-563.  
Zhang L, Wu J, Guo W, et al. The system of medical examination before the performance of evaluation application[J]. Laboratory Medicine, 2006, 21(6): 560-563.
- [3] 张葵. 定量检测系统方法学性能验证实验的基本方法[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(5): 321-323.  
Zhang K. Basic method of performance verification test in quantitative detection system methodology[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2009, 27(5): 321-323.
- [4] 何平. 健康成人血清 $\beta_2$ 微球蛋白参考区间的建立[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(14): 1554-1555.  
He P. Establishment of the reference interval of serum- $\beta_2$ -microglobulin for healthy adult[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2011, 32(14): 1554-1555.
- [5] 王建兵, 潘婉仪, 徐建华, 等. 罗氏Modular P800型生化分析仪测量总胆红素的方法学性能评价及参考区间的建立[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(1): 81-83.  
Wang JB, Pan WY, Xu JH. Evaluation of the method for determination of total bilirubin with Roche Modular P800 biochemistry analyzer and establishment of the reference intervals[J]. J Mod Lab Med, 2009, 24(1): 81-83.
- [6] 徐建华, 黄宪章, 庄俊华, 等. 罗氏Modular全自动生化分析仪酶学指标检测性能验证[J]. 检验医学, 2010, 25(2): 81-85.  
Xu JH, Huang XZ, Zhuang JH, et al. Performance verification of enzymological items measurement by Roche Modular automatic biochemical analyzer[J].

- Laboratory Medicine, 2010, 25(2): 81-85.
- [7] 夏邦世, 吴金华. Kappa 一致性检验在检验医学研究中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1): 83-84.
- Xia BS, Wu JH. The application of Kappa consistency check in inspection of medical research[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2006, 29(1): 83-84.
- [8] 谭璐. 化学发光微粒子免疫分析法与酶联免疫法测定乙肝标志物的比较[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(3): 294-295.
- Tan L. The comparison of determination of HBV markers between chemiluminescence immunoassay particles and enzyme-linked immunoassay[J]. Journal of Practical Medical Techniques, 2008, 15(3): 294-295.
- [9] 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 126-156.
- Yang YY, Zhang XM. Clinical testing methodology [M]. 2th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 126-156.
- 收稿日期: 2014-06-04  
修回日期: 2015-01-11

(上接 106 页)关系作出定论<sup>[3,11]</sup>。本文分析了不同 SUA 水平人群在糖负荷后 INS 的分泌情况, 发现 HUA 人群糖负荷后 0, 30, 60, 120, 180 min INS 分泌高于 NUA 人群, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 并且 INS 与 SUA 的 Pearson 相关系数分别为 0.107, 0.154, 0.195, 0.157, 0.112 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 提示 SUA 水平与 INS 动态分泌关系密切; 进一步的多因素逐步回归分析在调整相关因素后发现糖负荷后 60 min INS 分泌与基础 SUA 独立正相关 ( $\beta$  值 0.194,  $P < 0.01$ ), 说明 SUA 可指示 INS 早期分泌。临床有研究发现常见的生化指标与 DM 的发生发展有关<sup>[12]</sup>, SUA 也许能作为 INS 分泌的潜在标志物可运用于临床。

本研究纳入人群为门诊体检人群和新诊断的 T2DM, 缺乏 T2DM 不同病程人群 SUA 的动态监测。研究发现不同病程 T2DM 胰岛素敏感性和胰岛素分泌起不同的作用<sup>[13]</sup>, 将不同 T2DM 病程人群纳入研究可能进一步揭示 SUA 和 DM 及 INS 的关系。尽管如此本阶段发现 SUA 与 INS 动态分泌之间的相关性, 提示临床重视 SUA 水平对 INS 分泌的指示作用, 对 T2DM 的一级预防及 T2DM 病程的监控指导, 都有非常大的现实意义。

#### 参考文献:

- [1] Kodama S, Saito K, Yachi Y, et al. Association between serum uric acid and development of type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2009, 32(9): 1737-1742.
- [2] Causevic A, Semiz S, Macic DA, et al. Relevance of uric acid in progression of type 2 diabetes mellitus[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2010, 10(1): 54-59.
- [3] Pfister R, Barnes D, Luben R, et al. No evidence for a causal link between uric acid and a type 2 diabetes; a mendelian randomization approach[J]. Diabetologia, 2011, 54(10): 2561-2569.
- [4] Jia L, Xing J, Ding Y, et al. Hyperuricemia causes pancreatic  $\beta$ -cell death and dysfunction through NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e78284.
- [5] 霍丽丽, 纪立农. 血清尿酸水平与糖代谢状况及肌酐清除率的关系[J]. 中国糖尿病杂志, 2008, 16(12): 732-734.
- Huo LL, Ji LN. Relationship of serum uric acid level with the different states of glucose metabolism and creatinine clearance rate[J]. Chin J Diabetes, 2008, 16(12): 732-734.
- [6] So A, Thorens B. Uric acid transport and disease[J]. J Clin Invest, 2010, 120(6): 1791-1799.
- [7] Bos MJ, Koudstaal PJ, Hofman A, et al. Uric acid is a risk factor for myocardial infarction and stroke; the rotterdam study[J]. Stroke, 2006, 37(6): 1503-1507.
- [8] Choi HK, Mount DB, Reginato AM. Pathogenesis of gout[J]. Annals of Internal Medicine, 2005, 143(7): 499-516.
- [9] Zhang Y, Yamamoto T, Hisatome I, et al. Uric acid induces oxidative stress and growth inhibition by activating adenosine monophosphate-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinase signal pathways in pancreatic  $\beta$  cells[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2013, 375(1/2): 89-96.
- [10] Meisinger C, Doring A, Stockl D, et al. Uric acid is more strongly associated with impaired glucose regulation in women than in men from the general population; the KORE F4-study[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37180.
- [11] 李军民, 谈 昀, 曾宪飞. 血清 GGT 在 2 型糖尿病早期诊断的临床应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 154-156.
- Li JM, Tan Y, Zeng XF. Serum levels of GGT in the early diagnosis of type 2 diabetes mellitus[J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(1): 154-156.
- [13] 李国春, 巫开文, 袁 辉, 等. 不同糖代谢水平人群胰岛素分泌和胰岛素敏感性的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(3): 293-295.
- Li GC, Wu KW, Yuan H, et al. Differences in insulin sensitivity and insulin secretion in subjects with impaired glucose regulation[J]. Int J Lab Med, 2013, 34(3): 293-295.
- 收稿日期: 2014-10-19  
修回日期: 2015-01-03