

基于 EP12-A2 文件评价尿蛋白定性检测性能*

龙一飞, 林冬玲, 陈 富, 许振杰, 陈中华, 刘建平, 李 松, 李有强, 王丽娜

(广东省中医院检验科, 广州 510000)

摘要:目的 评价 AX-4030 与 Cobas U411 尿干化学分析仪在尿蛋白定性检测的分析性能, 探讨定性试验性能评价方法。方法 参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP12-A2 文件推荐方法, 对日本京都 AX-4030 和罗氏 Cobas U411 尿干化学分析仪两检测系统尿蛋白定性检测做偏倚和不精密度分析, 比较两检测系统的 C_{50} , $C_5 \sim C_{95}$ 区间以及不精密度区间。两系统同时检测 310 份临床尿标本蛋白, 统计分析并评价两者结果的一致程度。结果 尿干化学分析仪 AX-4030 检测系统检测尿蛋白的 C_{50} 小于 CobasU411 系统, AX-4030 系统的 $C_5 \sim C_{95}$ 区间比 U411 系统的窄, AX-4030 系统的不精密度曲线较 U411 系统曲线陡峭; 两套系统检测临床标本尿蛋白结果方法学的比较, 一致性百分率为 96.8%, 阳性一致率为 82.7%, 阴性一致率为 99.6%; 95%CI 为 94.2%~98.16%, Kappa 值为 0.88。结论 AX-4030 检测系统在尿蛋白 C_{50} 临界值处的灵敏度及不精密度较 Cobas U411 系统稍优, 二者在临床标本检测中的尿蛋白结果一致性程度极强。EP12-A2 推荐的定性试验性能评价方法可行、有效。

关键词:尿蛋白定性; 性能评价; EP12-A2

中图分类号: R446.112 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)02-117-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.036

Evaluate the Performance of Urine Protein Qualitative Test by EP12-A2 Document

LONG Yi-fei, LIN Dong-ling, CHEN Fu, XU Zhen-jie, CHEN Zhong-hua, LIU Jian-ping, LI Song,

LI You-qiang, WANG Li-na (Department of Clinical Laboratory,

Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the analysis capability of urine protein qualitative test between AX-4030 and Cobas U411 urine dry chemistry analyzer, and study on evaluating the performance of qualitative test. **Methods** According to Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) EP12-A2 document, analyzed the bias and imprecision of urine protein qualitative test between the Aution MAX AX-4030 and Roche CobasU411 system. Their C_{50} , $C_5 \sim C_{95}$ intervals and imprecision curves were compared. The protein of 310 specimens were simultaneously determined by both Cobas U411 and AX-4030, in order to evaluate their concordance. **Results** C_{50} for AX-4030 system was less than that for Cobas U411; $C_5 \sim C_{95}$ interval of AX-4030 system was narrower than CobasU411. The imprecision curve of AX-4030 system was steeper than Cobas U411. The comparison of the two analysis systems showed that the concordance was 96.8%, the positive concordance was 82.7%, and the negative concordance was 99.6%. The 95% credibility interval (CI) was 94.2%~98.16% and the Kappa value was 0.88. **Conclusion** For the sensitivity and imprecision of urine protein test in the C_{50} critical value, the AX-4030 system was better than Cobas U411. The concordance of them in determining clinical specimens was pole-strength. The evaluation recommended by the EP12-A2 document is practical and effective.

Keyword: urine protein qualitative test; performance evaluation; EP12-A2

临床实验室定性检测可用于各种疾病的筛查、诊断及治疗。在采用一种新的检测方法检测患者标本之前, 实验室操作人员必须评价该检测方法在临床实验室中的检测能力, 或当实验室同时使用两套以上检测系统检测同一项目且采用相同的参考区间时, 也必须保证各检测系统结果的一致性。由于人们在定性试验的实验设计、数据分析以及结果解释方面强调的重点不同, 定性试验的性能评价规则也多样, 目前尚未形成一个统一的方法。美国临床实验室标准化协会(CLSI) EP12-A2 文件《定性检测性能评价的用户协议》^[1]为定性试验性能评价

的实验设计以及数据分析提供了一个规范性、概括性的研究方法。文件要求定性试验的性能评价也应该像定量试验一样, 将偏倚(系统误差)和不精密度(随机误差)考虑进来, 通过性能评价来熟悉和了解影响该方法接近临界值精密度的潜在变异来源。

尿蛋白测定有非常重要的临床意义, 早期肾脏功能损伤主要是微量清蛋白的出现。如用常规尿蛋白定性方法能筛查检出这部分尿微量清蛋白, 就能在肾功能破坏尚可逆转时发出警告, 指导临床及时治疗, 防止患者肾功能发生不可挽回的损伤^[3]。下面我们参考 EP12-A2 文件要求, 对我科室现存

* 作者简介: 龙一飞(1986-), 男, 本科, 初级技师, 主要从事临床血液、体液学检验工作, Tel: 13828490702, E-mail: long001fei@126.com。

的日本京都 AX-4030 和罗氏 Cobas U411 两检测系统进行尿蛋白定性检测性能方案探讨设计。

1 材料与方法

1.1 标本来源

1.1.1 收集大学城医院 2014 年 4 月 15 日当天新鲜混合高浓度尿清蛋白随机尿(经罗氏 Cobas8000 化学分析仪检测,尿清蛋白浓度为 3 612 mg/L)。

1.1.2 收集 2014 年 4 月 16 日~18 日三天大学城医院病房的尿液常规分析标本共 310 份。

1.2 主要试剂与仪器 罗氏 Cobas U411 尿干化学分析仪及原装配套干化学试剂条 Combur 10 Test M(试剂批号:222112-01),日本京都 AX-4030 尿干化学分析仪及原装配套干化学试剂条 AU-TION Sticks 10EA(试剂批号:OEA4A45);伯乐两水平尿干化学质控品(批号:65800);罗氏 Cobas8000 全自动生化分析仪及原装配套尿清蛋白定量检测试剂(批号:69185701)、校准品(批号:7431401);强生尿清蛋白定量质控品(批号:12092)。

1.3 方法

1.3.1 临界值 C_{50} , $C_5 \sim C_{95}$ 区间判定:在最佳条件下,检测结果阴、阳性各占 50% 的标本浓度确定为该实验的临界值 C_{50} ,当标本中分析物浓度超过 C_{50} ,重复检测结果是阳性的可能性增大;反之,阴性的可能性增大。由于准确估计 C_{50} 比较困难,根据 EP12-A2 文件^[1],近临界值浓度的标本重复检测 40 次,如果阳性结果达到 14~26 次(或阳性结果百分数达 35%~65%),说明对该方法的 C_{50} 估计正确。 $C_5 \sim C_{95}$ 区间定义为某一接近临界值的分析物浓度范围,浓度超出该范围,重复检测标本得到的结果持续为阴性(浓度 $< C_5$)或结果持续为阳性(浓度 $> C_{95}$)。由于不精密度,对该区间内浓度的标本进行重复检测,得到结果将不一致,该浓度范围称为 $C_5 \sim C_{95}$ 区间。

1.3.2 高浓度尿蛋白标本的稀释与蛋白定量测定:上述 3 612 mg/L 高浓度尿蛋白标本用 0.9 g/dl 生理盐水作一系列稀释,使之接近 C_{50} ,用罗氏 Cobas8000 全自动化学分析仪检测稀释后各标本的蛋白浓度两次,取其平均值。记录各稀释度与对应的尿蛋白浓度值。

1.3.3 重复性试验:稀释后各浓度标本用 AX-4030 与 Cobas U411 两套检测系统按科室标准实验操作程序分别重复检测 40 次,记录每浓度的阳性结果百分数。以各稀释度尿蛋白浓度(mg/L)为横坐标,以蛋白阳性结果百分数(%)为纵坐标,拟合两检测系统检测尿蛋白的不精密度曲线。从不精密度曲线图分析评价二者尿蛋白的 C_{50} , $C_5 \sim C_{95}$

区间。

1.3.4 方法学一致性比较:两系统同时检测 310 份新鲜临床尿液标本的尿蛋白。因 AX-4030 检测系统从 2013 年~2014 年 5 月共 3 次卫生部室间质评活动的 15 个尿蛋白定性结果,结果符合率为 100%,故以 AX-4030 作为结果比对的靶系统去比较二者尿蛋白检测结果的一致程度。

1.4 统计学分析 对结果做 2×2 列联表,根据 EP12-A2^[2]推荐方法,计算 2 种方法一致程度的 95% 可信区间(CI),公式为 $100\% (Q1 - Q2) / Q3$, $100\% (Q1 + Q2) / Q3$ 。其中: $Q1 = 2(a + d) + 1.96 \times 2$; $Q2 = 1.96 \sqrt{3.84 + 4(a + b)(b + c) / n}$; $Q3 = 2(n + 1.96^2)$ 。计算 Kappa 值评价二者一致性程度^[4]。根据 Landis 等^[7]提出一致性强度参考判断指标 Kappa 值划分为六个区段,分别代表一致性的强弱程度:Kappa 值 < 0 一致性强度极差,0.0~0.2 微弱,0.21~0.40 弱,0.41~0.60 中度,0.61~0.80 高度,0.81~1.00 极强。

2 结果

2.1 两套检测系统尿蛋白的 C_{50} 结果估计 当尿蛋白强阳性标本稀释度 1:30(蛋白浓度为 128 mg/L),AX-4030 系统重复检测 40 次,阳性结果为 19/40(47.5%);蛋白强阳性标本稀释度至 1:28(蛋白浓度为 141 mg/L),罗氏 U411 系统重复检测 40 次,阳性结果为 22/40(45%);二者阳性百分数在 45%~47.5%,浓度接近 C_{50} ,结果见表 1,表 2。

表 1 日本京都 AX-4030 系统检测尿蛋白的 C_{50} 估计

标本稀释度	尿蛋白浓度(mg/L)	阳性结果数	阳性百分率%	浓度
1:25	162	40	100	C_{100}
1:27	146	38	95	C_{95}
1:29	132	28	70	C_{70}
1:30	128	19	47.5	$C_{47.5}$
1:31	113	14	35	C_{35}
1:32	109	3	7.5	$C_{7.5}$
1:33	92	0	0	C_0

表 2 罗氏 U411 系统检测尿蛋白的 C_{50} 估计

标本稀释度	尿蛋白浓度(mg/L)	阳性结果数	阳性百分率%	浓度
1:20	189	40	100	C_{100}
1:25	162	39	97.5	$C_{97.5}$
1:27	146	28	70	C_{70}
1:28	141	18	45	C_{45}
1:29	132	13	32.5	$C_{32.5}$
1:32	109	1	2.5	$C_{2.5}$
1:33	92	0	0	C_0

2.2 两套检测系统检测尿蛋白的不精密度曲线及二者 $C_5 \sim C_{95}$ 区间比较 从二者不精密度曲线图观察可见,AX-4030 系统尿蛋白检测的 $C_5 \sim C_{95}$ 区间比 Cobas U411 系统的稍窄,且 AX-4030 检测系统的不精密度曲线相对高而陡峭,Cobas U411 检测系统的不精密度曲线显得相对低而平滑,见图 1。

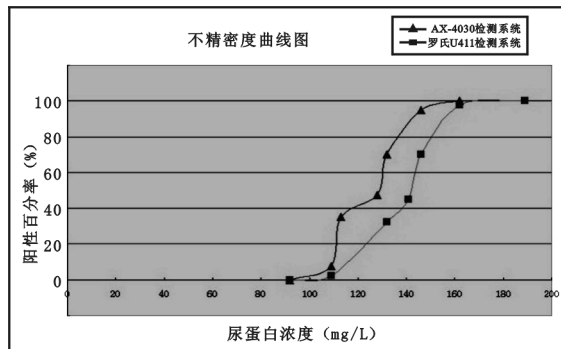


图 1 AX-4030 和 Cobas U411 两系统检测尿蛋白的不精密度曲线拟合图

2.3 AX-4030 和 Cobas U411 两系统检测临床尿蛋白的结果一致性程度评价 两系统检测 310 例临床标本的尿蛋白结果按 2×2 列联表格式要求列表。按照 EP12-A2 文件的公式统计分析,这两系统检测尿蛋白结果的一致率为 96.8%,阳性一致率为 82.7%,阴性一致率为 99.6%,两系统一致程度的 95% CI 为 94.2% ~ 98.16%,Kappa 值 = 0.88。

表 3 AX-4030 检测系统和 Cobas U411 检测系统检测 310 例临床标本尿蛋白结果

项目(尿蛋白)	AX-4030 检测系统		合计
	阳性	阴性	
Cobas U411 检测系统 阳性	43	1	44
阴性	9	257	266
合计	52	258	

注:所有尿蛋白半定量(+,2+,3+,4+)均统计归纳为阳性结果。

3 讨论 从表 1,表 2 数据,我们不难发现 AX-4030 检测系统的 C_{50} (标本稀释度介于 1:29~1:30,浓度介于 132~128 mg/L)小于 Cobas U411 检测系统的 C_{50} (标本稀释度介于 1:27~1:28,浓度介于 146~141 mg/L),表明 AX-4030 检测系统在尿蛋白定性检测的灵敏度要高于 Cobas U411 系统。从二者的不精密度曲线拟合图分析中,也支持证实了该观点,因为在 $C_5 \sim C_{95}$ 浓度区间如要获得同一阳性百分率,AX-4030 检测系统所需的尿蛋白浓度要低于罗氏 Cobas U411 系统。

EP12-A2 文件用 $C_5 \sim C_{95}$ 区间的宽度来描述

实验室定性试验方法学的不精密度。因为 $C_5 \sim C_{95}$ 区间宽度反映了重复性检测结果不一致的浓度范围, $C_5 \sim C_{95}$ 区间越窄,代表单位浓度范围内该方法或系统的重复性越好。通过图 1 这两套分析系统的不精密度曲线及 $C_5 \sim C_{95}$ 区间分析比较,我们发现 AX-4030 检测系统尿蛋白临界值的 $C_5 \sim C_{95}$ 区间比 Cobas U411 系统的稍窄,说明 AX-4030 检测系统在接近 C_{50} 处的精密度稍优于 Cobas U411,当 AX-4030 系统重复检测浓度接近临界值的蛋白尿时,结果的一致程度要比 Cobas U411 系统高。

在 310 例临床尿液标本检测尿蛋白定性结果统计分析中,AX-4030 与 Cobas U411 两检测系统的结果一致率为 96.8%,两者的 95% 一致程度评分可信区间(95% CI)为 94.2%~98.16%及 Kappa 值为 0.88,根据 Landis 等^[1]的判断标准,我们可以认为二者的一致性程度极强。

CNAL-CL02:2008《医学实验室质量和能力认可准则》^[2]明确规定,当实验室更换或使用新的检测试剂或系统,需对之进行性能验证;或同时使用两套以上检测系统检测同一项目时,必须保证两者结果的一致性。在具有一定规模的医疗机构中,两套以上检测系统同时检测同一项目的现象非常普遍,因此如何对定性试验检测系统进行性能验证,以保证定性结果的一致性,是各实验室质量保证内容之一。但由于定性试验的特点与定量试验不同,决不能像定量试验一样用“靶值±允许总误差”等方式进行分析性能的评价。由于目前在世界范围内还没有一个通行的定性试验性能评价方案,因此很多实验室在方法学实验方案的设计与数据分析标准化等方面会显得无所适从。修订版 EP12-A2 文件则为定性试验的设计与数据分析提供一个较为公认和统一的评价方案。该文件除新增了关于结果一致性指标 CI 的内容,还包含和定义了一些新的术语如“ $C_5 \sim C_{95}$ 区间”等,这些内容均可作为定性试验性能评价指标。本实验研究利用 EP12-A2 文件推荐的评价方案内容,对科室现存的两套尿干化学分析仪 AX-4030 和 Cobas U411 两系统检测尿蛋白进行性能评价和比较,不仅为本实验室对这两套系统检测尿蛋白的性能评价提供实验依据,也为其它定性试验性能评价提供一个规范性与科学性的实验设计与数据分析方法。

参考文献:

- [1] Clinical and Laboratory standards Institute. User protocol for evaluation of qualitative test performance; approved guideline[S]. Wayne: PA, GLSI EP12-A2, 2008.

(下转 122 页)

PCT作为一种新的感染及炎症反应标志物和(1,3)- β -D葡聚糖作为深部真菌感染的一个敏感指标在临床中广泛应用,在真菌感染时浓度升高,对ICU深部真菌感染早期快速诊断有重要的临床价值,但最好联合多项指标进行检测,以便在提高诊断灵敏度的同时提高诊断的特异度。深部真菌感染在临床上发病率逐年上升,病死率也高,诊断困难。因此,要进一步发现和研究新的特异度高的检测指标,以便更好地为临床深部真菌感染的早期快速特异的诊断提供依据。

参考文献:

- [1] Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the united states from 1979 through 2000 [J]. N Engl J Med, 2003, 348 (16): 1546-1554.
- [2] 陈凌玉,沈跃飞. ICU患者深部真菌感染的高危因素分析[J]. 浙江实用医学, 2006, 11(5): 359-360.
Chen LY, Shen YF. Risk factors analysis of deep fungal infection in ICU patients [J]. Zhejiang Practical Medicine, 2006, 11(5): 359-360.
- [3] 张圣岸,王盛标,黄强,等. ICU深部真菌感染的现状和对策[J]. 中国医药导报, 2008, 5(3): 98-100.
Zhang SA, Wang SB, Huang Q, et al. The current situation issues and countermeasures of deep fungal infection in ICU [J]. China Medical Herald, 2008, 5(3): 98-100.
- [4] Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1,3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans [J]. Clin Infect Dis, 2005, 41(5): 654-659.
- [5] 张晓艳,董方,赵顺英,等. 血浆(1-3)- β -D葡聚糖检测对儿童侵袭性真菌感染诊断价值[J]. 中国循证儿科杂志, 2012, 7(3): 192-195.
- Zhang XY, Dong F, Zhao SY, et al. The diagnostic value of plasma-1,3- β -D glucan to invasive fungal infection in children [J]. Chinese Journal of Evidence-Based Pediatric, 2012, 7(3): 192-195.
- [6] White PL, Linton CJ, Perry MD, et al. The evolution and evaluation of a whole blood polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting [J]. Clin Infect Dis, 2006, 42(4): 479-486.
- [7] Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, et al. Plasma (1-3)-beta-D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis and cryptococcosis [J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(12): 3115-3118.
- [8] 陈峰,陶晓勤,刁文晶,等. 国产血浆(1-3)- β -D葡聚糖检测试剂对侵袭性真菌病诊断价值评估[J]. 上海交通大学(医学版), 2012, 32(3): 348-351.
Chen F, Tao XQ, Diao WJ, et al. Evaluation of domestic plasma (1-3)- β -D-glucan detection reagent in diagnosis of invasive fungal disease [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Sciences), 2012, 32(3): 348-351.
- [9] 杨洁琼. 深部真菌感染患者血浆(1-3)- β -D葡聚糖检测的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(2): 12-13.
Yang JQ. Deep fungal infection in patients with plasma (1-3)-the clinical value of beta glucan D detection [J]. J Mod Lab Med, 2009, 24(2): 12-13.
- [10] Bedirli A, Kerem M, Pasaoglu H, et al. Beta-glucan attenuates inflammatory cytokine release and prevents acute lung injury in an experimental model of sepsis [J]. Shock, 2007, 27(4): 397-401.

收稿日期: 2015-01-09

修回日期: 2015-02-13

(上接 119 页)

- [2] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京: CNAS-CL02, 2008.
China National Accreditation Service for Conformity Assessment. Accreditation criteria for the quality and competence of medical Laboratories [J]. Beijing: CNAS-CL02, 2008.
- [3] 陈燕,赵敏,张家红,等. 尿微量蛋白检查对糖尿病早期肾损伤诊断价值[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(9): 562-564.
Chen Y, Zhao M, Zhang JH, et al. Monitoring diabetes nephropathy by urine examination [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2003, 26(9): 562-564.
- [4] 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. Kappa consistency inspection in the application of medical research [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2006, 29(1): 83-84.
- [5] 陈桂山,张秀明,熊继红,等. 未知诊断定性试验分析性能评价方法探讨[J]. 检验医学, 2010, 25(12): 978-981.
Chen GS, Zhang XM, Xiong JH, et al. Study on evaluating the performance of unknown diagnosis qualitative test [J]. Laboratory Medicine, 2010, 25(12): 978-981.
- [6] 王洁贞,韩兢,刘言训,等. Kappa统计量在一致性和重现性检验中的应用[J]. 山东医科大学学报, 1996, 34(3): 209-212.
Wang JZ, Han J, Liu YX, et al. Kappa statistics in the application of the consistency and reproducibility test [J]. Journal of Shandong Medical University, 1996, 34(3): 209-212.
- [7] Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for Categorical data [J]. Biometrics, 1977, 33: 159-174.

收稿日期: 2014-12-02

修回日期: 2015-01-25