

# 日本积水公司血浆全程C-反应蛋白胶乳免疫比浊法 最低检测限和功能灵敏度的确认\*

谢正媛, 陈涓涓, 祖维磊, 李奕晓, 李欣, 孙虹 (云南省人口和计划生育科学技术研究所  
西部孕前优生重点实验室 云南省生育调节与少数民族优生重点实验室, 昆明 650021)

**摘要:**目的 对日本积水医疗株式会社全程CRP检测试剂盒的最低检测限和功能灵敏度进行确认。方法 参照相关文献, 用日本积水医疗株式会社全程C-反应蛋白检测试剂盒和雅培生化分析仪对空白样本和系列稀释的低浓度样本进行C-反应蛋白检测, 计算吸光度均值、标准差和变异系数, 确定该方法的检测低限和功能灵敏度。结果 日本积水医疗株式会社全程C-反应蛋白检测试剂盒的最低检测限0.21 mg/L, 功能灵敏度0.27 mg/L。结论 各实验室进行hs-CRP检测时, 应自行建立所用方法的最低检测限和功能灵敏度, 以保证检测结果能够满足临床对心血管疾病危险评估的需要。

**关键词:** C-反应蛋白; 超敏C-反应蛋白; 检测低限; 功能灵敏度

中图分类号: R446.112 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)03-118-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.03.029

## Confirmation of the Limit of Detection and Functional Sensitivity for the Nanopia CRP Reagent of Sekisui Medical Technology

XIE Zheng-yuan, CHEN Juan-juan, ZU Wei-lei, LI Yi-xiao, LI Xin, SUN Hong (Institute of  
Population and Family Planning Science and Technology of Yunnan Province/Key  
Laboratory of Pre-pregnancy Eugenics in Western China/Key Laboratory of Fertility  
Regulation and Excellent Birth of Ethnic Minorities in Yunnan Province, Kunming 650021, China)

**Abstract:** **Objective** To determine the limit of detection and functional sensitivity for the Nanopia CRP reagent of Sekisui Medical Technology. **Methods** According to previous literatures, the high-sensitivity CRP of the control and serial diluted low concentration samples were tested by ARCHITECT (Clinical) Chemistry Analyzer and the Nanopia CRP reagent of Sekisui Medical Technology. The average, standard deviation and coefficient of variation of absorption were calculated to determine the limit of detection and functional sensitivity of this test method. **Results** The Nanopia CRP reagent of Sekisui Medical Technology had a detection limit of 0.21 mg/L and a functional sensitivity down to 0.27 mg/L. **Conclusion** When the high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) test is conducted by each individual laboratory, it is recommended to measure the limit of detection as well as the functional sensitivity based on the method used in each laboratory.

**Keywords:** C-reactive protein; high-sensitivity C-reactive protein; limit of detection; functional sensitivity

C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是一种由肝脏合成的蛋白质, 因能与肺炎球菌细胞壁C多糖结合而得名, 是目前最有价值的急性时相反应蛋白, 被广泛应用于感染性疾病<sup>[1]</sup>、各类心血管疾病的诊断及监测<sup>[2-3]</sup>。使用检测低限 $\leq 0.3$  mg/L方法检测到的CRP即为超敏C-反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP), 其水平与动脉粥样硬化及急性脑梗死(ACI)的发生、严重程度及预后密切相关<sup>[4]</sup>。有文献报道我国健康人群hs-CRP的中位数为0.58~1.13 mg/L, hs-CRP浓度 $\geq 3.0$  mg/L可作为心血管疾病风险发生的潜在标志物<sup>[5]</sup>。鉴于hs-CRP在心血管疾病风险评估中的重要价值, 实验室进行hs-CRP检测时需评估检测低限是否满足hs-CRP的要求, 本研究参照

相关文献[6-7]对日本积水医疗株式会社全程CRP试剂最低检测限(low limit of detection, LLD)和功能灵敏度(functional sensitivity, FS)进行了确认, 现将相关研究结果进行报道。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验样本

1.1.1 空白样本: 根据试剂盒要求用生理盐水为空白样本。

1.1.2 低浓度系列检测样本: 因试剂盒提供的最低检测限为0.1 mg/L, 以生理盐水为稀释液, 将厂家提供的3.0 mg/L浓度标准液稀释成理论浓度为0.10, 0.30, 0.60, 1.20, 2.40和3.00 mg/L的低浓度系列样本备用。

1.2 试剂和仪器 日本积水医疗株式会社全程

\* 基金项目: 云南省重点实验室自选项目(ZDsys2013001); 国家卫生健康委员会重点实验室开放项目(ZDsys2016003)。

作者简介: 谢正媛(1987—), 女, 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事临床检验、不孕不育、优生优育等生殖医学相关的研究, E-mail: xiezhenyuan11@163.com。

通讯作者: 孙虹(1963—), 女, 学士, 主任医师, 主要从事临床生化免疫检验和实验室质量管理工作, E-mail: sunhong010@sina.com。

CRP 检测试剂盒, CRM470 校准品(国际有证参考材料), 6 点校准品(3.0, 6.0, 30.0, 180.0, 300.0, 420.0 mg/L), 美国雅培公司 CI-16200 全自动生化分析免疫一体机。

### 1.3 方法 胶乳免疫比浊法。

1.3.1 取空白样本 1 份批内重复测定 10 次, 记录每次测定结果的吸光度 A(仪器定期进行校准, 检测前做室内质控在控)。

1.3.2 标准曲线: 取空白样本和 6 个浓度校准品进行双份测定, 记录每次测定结果的吸光度 A 均值。

1.3.3 取低浓度系列样本每天测定 1 次, 连续测定 10 天, 记录每天测定结果的吸光度 A。

1.4 统计学分析 所有数据均采用 Excel 2010 统计软件进行。

1.4.1 计算空白样本批内 10 次测定结果的均值( $\bar{x}$ )和标准差( $s$ ), 采用 99.7% 的可能性来估计最低检测限<sup>[6-7]</sup>。

1.4.2 绘制低浓度系列标准曲线: 将  $S_0 \sim S_6$  系列样本的吸光度 A 与相应的理论浓度制成低浓度系列标准曲线备用。

1.4.3 绘制低浓度系列样本 CV% 与理论浓度的曲线图: 以低浓度系列样本的 CV% 为 Y 轴、理论浓度为 X 轴制图。在图上找到 CV% 最接近 20% 的点, 该点对应的分析物浓度即为 CRP 试剂的功能灵敏度<sup>[6-7]</sup>。

表 1 空白样本和系列低浓度样本 CRP 检测结果的吸光度 A

检测次数 (次/天)	样本理论浓度(mg/L)						
	$S_0$ (0 mg/L)	$S_1$ (0.10 mg/L)	$S_2$ (0.30 mg/L)	$S_3$ (0.60 mg/L)	$S_4$ (1.20 mg/L)	$S_5$ (2.40 mg/L)	$S_6$ (3.00 mg/L)
1	0.000 7	0.001 7	0.002 9	0.005 6	0.008 8	0.013 7	0.023 7
2	0.001 2	0.000 9	0.003 5	0.006 3	0.008 2	0.013 4	0.023 2
3	0.000 6	0.001 6	0.004 1	0.006 8	0.008	0.014 1	0.022 4
4	0.000 9	0.001 3	0.002 5	0.005 9	0.009 6	0.012 6	0.023 8
5	0.001 1	0.000 9	0.003 1	0.005 2	0.009 8	0.013 3	0.023 2
6	0.000 6	0.000 8	0.002 2	0.006 6	0.008 9	0.013 1	0.023 5
7	0.001 2	0.001 5	0.003 6	0.005 2	0.008 4	0.012 9	0.023 9
8	0.000 9	0.001 8	0.003 9	0.006 1	0.008 6	0.013 5	0.023 1
9	0.001 3	0.001 1	0.002 7	0.006 4	0.009 7	0.013 2	0.022 9
10	0.000 8	0.001 4	0.003	0.005 7	0.008 3	0.013 9	0.023 2
$\bar{x}$	0.000 9	0.001 3	0.003 2	0.006 0	0.008 8	0.013 4	0.023 3
$s$	0.000 3	0.000 4	0.000 6	0.000 6	0.000 7	0.000 5	0.000 5
CV(%)	33.33	30.77	18.75	10.00	7.95	3.73	2.15

## 2 结果

2.1 空白样本与 6 个低浓度系列样本 10 次检测结果的吸光度 A 见表 1。由表 1 可见随着样本浓度的升高, 检测结果吸光度的 CV% 逐渐下降。

2.2 全程 CRP 试剂盒的 LLD 99.7% 可能性估计的  $LLD = A_{\text{空白}} + 3s_{\text{空白}} = 0.000 9 + 3 \times 0.000 3 = 0.001 8A$ , 既检测低限的吸光度为 0.001 8A, 为检测系统的噪声。由表 1 可见 0.001 8A 相当于样本  $S_1$  和  $S_2$  (0.1~0.3 mg/L) 之间所产生的吸光度, 在系列低浓度的标准曲线上查阅吸光度值 0.001 8A 对应的 CRP 理论浓度为 0.21 mg/L, 既全程 CRP 检测方法在本实验室的最低检测限为 0.21 mg/L。

2.3 全程 CRP 试剂盒的功能灵敏度 查 CRP 理论浓度与吸光度 CV% 关系图(图 1)可见, CV% 为 20% 对应的 CRP 理论浓度是 0.27 mg/L, 既全程 CRP 检测方法在本实验室的 FS 为 0.27 mg/L。

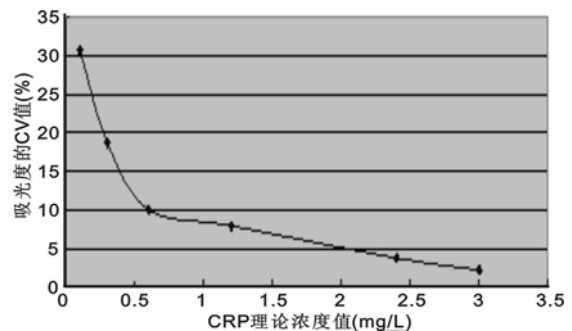


图 1 CRP 理论浓度与吸光度 CV% 关系图

3 讨论 最低检测限指能检测到的样本中分析物最小量, 是基于零浓度基础上检测方法对空白样本测定的噪音, 用于区分从无到有的分析能力, 临床多用于测定人体内不存在的分析物。功能灵敏度指在实际检测中能够测到的待测物最低浓度值, 以天间重复 CV% 为 20% 对应的检测限样本平均浓度代表某个定量检测可报告低限。这个值一般要比最低检测限高, 用于区分从有到无的分析能力,

临床上用于测定人体内存在的极微量分析物。hs-CRP的定量检测限是可以为临床提供可靠定量数据的重要限值,但本实验室使用的检测方法仅提供线性范围 0.1~420 mg/L,未提供检测低限,经确认最低检测限和功能灵敏度都能满足检测低限 $\leq$  0.3 mg/L的要求。

随着检测技术的发展,实验室将会更多的采用高敏或超敏方法来检测具有较高临床价值的低含量物质,除 hs-CRP 外目前常用的还有高敏心肌肌钙蛋白和 B 型利钠肽原等,其相关的国际或国内指南如心力衰竭标志物指南<sup>[8]</sup>和高敏心肌肌钙蛋白在急性冠脉综合征中的应用中国专家共识<sup>[9]</sup>都对其测定方法的不精密度和检测低限提出要求。实验室在使用这些方法时,应按照行业相关要求对其检测低限和功能灵敏度进行确认,以明确其性能是否满足要求,才能让检验结果更好地服务于临床。

#### 参考文献:

- [1] 黄琨明, 罗建伟, 江志坚, 等. 血清降钙素原(PCT)与超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)对诊断细菌性感染的临床价值[J]. 吉林医学, 2017, 38(7): 1312-1314.  
HUANG Kunming, LUO Jianwei, JIANG Zhijian, et al. Diagnostic value analysis of PCT and hs-CRP in virus and bacterial infection[J]. Jilin Medical Journal, 2017, 38(7): 1312-1314.
- [2] 董莹, 王增武, 王馨, 等. 中国中年人群超敏 C 反应蛋白与心血管事件、总死亡事件的关联研究[J]. 中华流行病学杂志, 2018, 39(4): 428-432.  
DONG Ying, WANG Zengwu, WANG Xin, et al. Association between high-sensitivity C-reactive protein and both cardiovascular, total mortality events in middle-aged Chinese adults[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2018, 39(4): 428-432.
- [3] 任占云, 汤武装, 樊垚, 等. 超敏 C-反应蛋白与缺血性脑卒中发病的前瞻性队列研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2018, 22(1): 29-32.  
REN Zhanyun, TANG Wuzhuang, FAN Yao, et al. Association of high-sensitivity C-reactive protein with stroke: a prospective follow up study[J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2018, 22(1): 29-32.
- [4] 凌杰兵, 马斌. 血清超敏 C-反应蛋白与前白蛋白比值对急性心肌梗死患者并发心力衰竭的预测价值研究[J]. 临床误诊误治, 2018, 31(1): 82-85.  
LING Jiebing, MA Bin. Predictive value of serum high-sensitivity C-reactive protein and prealbumin ratio in patients with acute myocardial infarction complicated with heart failure[J]. Clinical Misdiagnosis & Mis-therapy, 2018, 31(1): 82-85.
- [5] WEN Shouling, LI Yun, JIN Cheng, et al. Intra-individual variability of high-sensitivity C-reactive protein in Chinese general population[J]. Int J Cardiol, 2012, 157(1): 75-79.
- [6] International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. NCCLS EP17-A: Protocols for determination of limits of detection and limits of quantization; Approved Guideline[S]. Wayne, PA, NCCLS EP17-A, 2005.
- [7] 杨永业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 142-152.  
YANG Yongye, ZHANG Xiuming. The methodology evaluation guide in clinical laboratory[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 142-152.
- [8] 张秀明, 冯仁丰. 正确理解和使用分析灵敏度及检出限[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(9): 669-672.  
ZHANG Xiuming, FENG Renfeng. Correctly understand and use analytical sensitivity and limit of detection[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2014, 37(9): 669-672.
- [9] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 高敏心肌肌钙蛋白在急性冠脉综合征中的应用中国专家共识[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(10): 809-812.  
Chinese Society of Cardiology of Chinese Medical Association, Editorial Board of Chinese Journal of Cardiology. Chinese expert consensus on application of high sensitive cardiac troponin in acute coronary syndrome[J]. Chinese Journal of Cardiology, 2012, 40(10): 809-812.