

· 论 著 ·

C 反应蛋白快速定量检测试剂盒性能评价

施国民, 徐 斐

〔摘要〕 目的 评价以胶乳免疫比浊法原理研制的 C 反应蛋白快速定量检测试剂盒的方法学性能。方法 测定试剂盒的检测限、精密度、线性范围、回收率、贮存稳定性, 将检测 200 份样本的结果与国外试剂盒比较。结果 检测限为 0.72 mg/L, 精密度: 高、低浓度水平的样本批内变异系数分别为 3.09%、6.75%, 批间变异系数分别为 6.47%、6.84%; 线性范围为 1~215 mg/L, 线性相关系数为 0.99; 平均回收率为 112.5%, 系统误差 < 1/2TEa。贮存有效期: 18 个月。200 份不同浓度样本测定结果与进口试剂盒比较差异无统计学意义。结论 研制的 C 反应蛋白快速定量检测试剂盒符合临床检测要求。

〔关键词〕 C 反应蛋白检测试剂盒; 胶乳免疫比浊法; 性能评价

〔中图分类号〕 R446.6 〔文献标志码〕 A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2014.04.002

Evaluation of the quality and performance of self-made C-reactive protein test kit

SHI Guo-min, XU Fei. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

〔Abstract〕 Objective To evaluate the quality and performance of self-made C-reactive protein test kit (latex immunoturbidimetry). Methods The limitation of detection, precision, linearity, recovery, expiry term was measured. 200 blood samples were used for the comparative study with imports. Results Limitation of detection: 0.72 mg/L. Precision: the within-run relative standard deviations of two different concentration samples were 3.09% and 6.75%. The day to day relative standard deviations of two different concentration samples were 6.47% and 6.84%. Linearity: the linear range was from 1 mg/L to 215 mg/L. The correlation coefficient was 0.99. Accuracy: the average recovery was 112.5%. The system error was less than 1/2TEa. Expiry term: 18 months. Contrast experiment: the results between self-made C-reactive protein test kit and imports had no significant difference. Conclusion The test kit is a valueable diagnostic tool for C-reactive protein rapid and accurate detection.

〔Key words〕 C-reactive protein test kit; latex immunoturbidimetry; performance evaluation

C 反应蛋白 (C-reaction protein, CRP) 是重要的急性期反应标志物^[1], 在各种急性和慢性感染、组织损伤、恶性肿瘤、手术创伤时会迅速升高, 病变缓解时又迅速降至正常水平^[2-5], 因此广泛应用于细菌或病毒所致急性感染性疾病及其他各类炎症性疾病的诊断和鉴别, 手术后感染和抗生素疗效的观察, 病情严重程度监测及预后判断等^[6-8]。

目前, 临床实验室定量检测 CRP 的方法主要有放射免疫测定法、酶联免疫吸附法、胶乳免疫比浊法等。其中放射免疫测定法由于存在辐射污染, 已较少应用。酶联免疫吸附法耗时较长, 不适合批量检测。胶乳免疫比浊法分为透射比浊法和散射比浊法, 前者用于生化分析仪, 后者用于特定蛋白分析仪。特定蛋白分析仪比生化分析仪体积小, 检测耗时更短, 数分钟内即可出结果, 特别适用于门诊和床边监护使用。目前特定蛋白分析仪的试剂多依赖于进口, 价格较为昂贵。我们将 CRP 单克隆、

多克隆抗体用 EDC/NHS 共价法与羧基化聚苯乙烯微球结合, 制备出用胶乳免疫比浊法检测 CRP 的试剂。本文对研制的 CRP 检测试剂盒性能进行评价。

1 材料与方法

1.1 样本来源 血液样本来源于南京市第一医院和南京医科大学第二附属医院门诊检验科, 按适用于临床实验室检验的方法采集, 采集后及时测定。

1.2 仪器与试剂 CRP 检测试剂盒 (胶乳免疫比浊法) 为本实验室自行研制, 批号 20110707、20130117。CB100 型特定蛋白分析仪为南京卡博生物科技有限公司生产。CRP 质控及校准品购自比利时 APTEC 公司, 质控品浓度为 5.3 和 20 mg/L, 批号 C3127。校准品浓度为 90 和 155 mg/L, 批号 S3134。牛血清白蛋白购自 Roche 公司。实验所用的对比试剂、仪器为芬兰 GENE SCIENTIFIC 公司生产的 CRP 高敏感干化学微粒增强型免疫比浊测定试剂盒, QuikRead 101 型蛋白免疫分析仪。

1.3 实验方法 按照《体外诊断试剂分析性能评估系列指导原则 (征求意见稿)》^[9] 所规定的方法,

基金项目: 国家自然科学基金 (31101283)

作者单位: 200093 上海, 上海理工大学医疗器械与食品学院

测定对自制试剂盒的检测限、精密度、线性范围、回收率、贮存稳定性,并与国外同类试剂盒进行 200 例临床对比研究。

1.3.1 检测限 用等渗盐水制备 5% 牛血清白蛋白作为空白样品,重复测定 20 次,计算均值及标准差,以空白均值加 2 倍标准差作为试剂盒的检测限。

1.3.2 精密度 用 5.3 和 20 mg/L 浓度的质控品评估试剂盒的精密度。每天上午、下午各进行 1 次测试,每次对同一样品重复检测 3 次,连续 20 天,分别计算批内精密度和批间精密度。

1.3.3 线性范围 将样本稀释为 11 个浓度:1、22.4、43.8、65.2、86.6、108.0、129.4、150.8、172.2、193.6、215 mg/L。在同一天内用同一批号试剂盒对所有样本测定 4 次,取其均值进行线性回归分析。

1.3.4 回收率 取 CRP 浓度为 20 mg/L 的新鲜人血样本,分为体积相同的 3 份,第一份加入 10% 体积 90 mg/L 的校准品,第二份加入 10% 体积 155 mg/L 的校准品,第三份加入 10% 体积的生理盐水,每个样本测试 3 次,计算平均回收率。以 CLIA'88 (美国临床实验室改进修正法规'88) 的总允许误差 (TEa) 为临床可接受性标准,小于 $1/2\text{TEa}$ 作为临床可接受水平。

1.3.5 贮存稳定性 用新配制的 20130117 批号试剂和稳定期末的 20110707 试剂对 2 份 CRP 水平不同 (7 和 20 mg/L) 的新鲜人血清样本同时测定 6 次,对两组结果进行 t 检验,比较检测结果的一致性。

1.3.6 与国外试剂盒比较 分别用自制试剂盒与对比试剂盒对 200 份血清样本进行检测,其中 CRP 异常的样本 60 份,比较 2 种试剂盒的测定结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间均数比较用 t 检验。两种试剂盒检测结果的相关性用 Pearson 分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检测限 为 0.72 mg/L。

2.2 精密度 在 5.3 和 20 mg/L 两个浓度水平的批内变异系数分别为 3.09% 和 6.75%,批间变异系数分别为 6.47% 和 6.84%,符合市售试剂盒精密度要求 (批内、批间变异系数均小于 10%),在临床可接受范围内。

2.3 线性范围 在浓度为 1 ~ 215 mg/L 范围内,线性关系良好,其直线回归方程为 $Y = 21.799X - 21.703$,线性相关系数 (r) = 0.99。

2.4 回收率 平均回收率为 112.5%,系统误差

(系统误差 = $100\% - \text{平均回收率}$) 为 2.5%,小于 $1/2\text{TEa}$,临床可接受。

2.5 检测试剂盒的贮存稳定性 新配试剂与处于稳定期末试剂对两个水平的新鲜人血样本测定所得结果比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。自制试剂盒贮存有效期为 18 个月,市售同类试剂盒一般为 12 个月,与之相比自制试剂盒的贮存有效期更长。

2.6 与国外试剂盒的比较 对自制试剂盒与对比试剂盒检测 200 份样本所得结果进行相关分析,结果显示 2 种试剂盒相关性良好,线性回归方程为 $Y = 1.0347X - 0.3894$ ($r = 0.997$, $P < 0.01$)。自制试剂盒检测结果为 (30.1 ± 42.0) mg/L,对比试剂盒检测结果为 (30.6 ± 43.5) mg/L,两者比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

CRP 是最重要的急性时相反应蛋白之一,对于各种感染和炎症过程、组织损伤与坏死及修复过程的评估与疗效判断都具有重要临床价值^[10]。我们对自制 CRP 检测试剂盒的检测限、精密度、准确度、线性范围、贮存稳定性进行了评价。结果表明自制试剂盒测定结果准确、稳定,可满足临床检测需求,价格较进口试剂低廉,适合大规模临床推广利用。

【参考文献】

- [1] 税国顺,何代莉,杨晓红. C-反应蛋白的测定及临床应用[J]. 现代医药卫生, 2005, 21(11): 1365-1366.
- [2] 周 宓,潘柏申. C-反应蛋白在临床应用中的进展[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册, 2005, 26(1): 56-57.
- [3] 杨 朵,胡 梅,李 莉,等. C-反应蛋白及降钙素原在血流细菌感染诊断中的应用价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(22): 5632-5633.
- [4] 余 丰,梁飞立,何艳英,等. C-反应蛋白水平与 HIV/AIDS 患者抗病毒治疗预后关系的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(19): 4616-4618.
- [5] 周志宇,韦成聪,赵冠焱,等. 颅脑损伤后脑脊液 C 反应蛋白动态变化及临床意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(2): 118-120.
- [6] Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein[J]. J Emerg Med, 1999, 17(6): 1019-1025.
- [7] Nashel DJ, Petrone DL, Ulmer CC, et al. C-reactive protein: a marker for disease activity in ankylosing spondylitis and Reiter's syndrome[J]. J Rheumatol, 1986, 13(2): 364-367.
- [8] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社, 2006: 121-122.
- [9] 国家食品药品监督管理局医疗器械技术审评中心. 体外诊断试剂分析性能评估系列指导原则(征求意见稿)[Z]. 2009-06-01
- [10] 宋 娜,张家云,余小红,等. 两种检测方法测定 C 反应蛋白的比较[J]. 检验医学, 2012, 27(4): 257-260.

(收稿日期:2014-02-28;修回日期:2014-06-18)

(本文编辑:齐 名; 英文编辑:王建东)