

中国儿童全血 C 反应蛋白检测系统性能评价标准建立 专家共识

中国妇幼保健协会临床诊断与实验医学分会

摘要: C反应蛋白 (CRP) 是感染性疾病的辅助诊断指标之一。测定CRP的标本类型已不局限于血清, 全血CRP检测在各级医疗机构, 特别是妇幼保健机构、儿童医院已广泛开展。全血CRP检测设备品牌众多, 但尚无相关检测系统的性能评价标准; 中国妇幼保健协会临床诊断与实验医学分会根据26家妇幼保健机构和儿童医院的研究结果, 制定了“中国儿童全血C反应蛋白检测系统性能评价标准建立专家共识”, 旨在通过分析全血CRP检测系统的性能状况, 结合临床需求、生物学变异、行业标准, 进一步明确全血CRP检测系统性能评价要求, 以保证检测质量。

关键词: 儿童; 全血; C反应蛋白; 检测系统; 性能评价

Expert consensus on establishment of standards for the performance evaluation of systems for whole blood C-reactive protein determination of Chinese children *Clinical Diagnosis and Laboratory Medicine Branch of China Maternal and Child Health Association.*

Abstract: C-reactive protein (CRP), which can be determined by serum as well as whole blood, has been traditionally utilized as a marker of infection. Many brands of whole blood CRP determination equipments have been widely used in medical institutions, especially in women's and children's hospitals. However, the standard for the performance evaluation of whole blood CRP determination system is not established. According to the data of 26 women's and children's hospitals, this consensus aims to provide the performance status of whole blood CRP determination system, and further put forward the performance evaluation requirements of whole blood CRP determination system in combination with clinical needs, biological variation and industry standards, so as to ensure the determination quality.

Key words: Children; Whole blood; C-reactive protein; Determination system; Performance evaluation

C反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 是由肝脏合成的急性时相反应蛋白, 因其血液浓度受血压、心率、呼吸、血红蛋白等其他指标的影响较小^[1-2], 在感染性疾病的诊断中应用价值较大, 有助于不明病因急性发热的诊断和鉴别诊断。CRP与白细胞 (white blood cell, WBC) 计数联合检测, 弥补了单纯进行常规血细胞检测的不足, 已被临床普遍接受。除公认的血清CRP检测外, 全血CRP检测在各级医疗机构, 尤其是妇幼保健机构、儿童医院已普遍开展, 但目前尚无全血CRP检测系统的性能评价方案和

标准。因此, 迫切需要建立全血CRP检测系统性能评价方法, 以明确全血CRP检测系统的性能是否能够满足临床需求。本研究联合全国26家三级甲等妇幼保健机构和儿童医院的研究人员, 通过5种全血CRP检测系统 (深圳迈瑞公司BC-5390 CRP全自动血液分析仪、深圳国赛公司Astep PLUS特定蛋白分析仪、上海奥普公司OTTOMAN-1000全自动特定蛋白即时检测分析仪、韩国Boditech Med公司i-CHROMA Reader免疫分析仪、芬兰奥瑞雅公司Qrion QuikRead go C反应蛋白定量分析仪) 多中心数据的支持, 确

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81871727); 上海市科学技术委员会优秀学术带头人计划 (18XD1402600); 上海市儿科临床分子诊断重点实验室研究项目 (20dz2260900)

通信作者: 潘秋辉, E-mail: pqhscmc0601@126.com。

认了全血CRP检测系统性能评价方法及相关指标,并达成共识。

1 样品选择 (sample selection)

推荐取静脉血抗凝样品 (EDTA-K₂·2H₂O: 1.5~2.2 mg/mL) 进行全血CRP检测系统性能评估。样品采集参考美国临床实验室标准化协会 (the Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) H3-A6文件^[3]和第4版《全国临床检验操作规程》的要求^[4]。采集静脉血确实困难时,可按照末梢血采集标准流程^[5]采集末梢血。

2 空白测定 (background check)

建议全血CRP检测设备空白测定<1 mg/L。虽然《WS/T 420—2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证》^[6] (简称WS/T 420) 和2019年发布的《CNAS-GL037 临床化学定量检验程序性能验证指南》^[7]均不包含空白测定,但空白测定可了解全血CRP检测设备的本底检测值,进而判断测定结果是否受到影响,因此建议对该性能进行评估。测定方法建议参考《WS/T 406—2012 临床血液学检验常规项目分析质量要求》^[8] (简称WS/T 406),使用无CRP的稀释液作为空白测定样品,连续测定3次,记录最大值。

3 携带污染 (carryover)

即时检测 (point-of-care testing, POCT) 设备不涉及携带污染评估,其他全血CRP检测设备的携带污染评估建议低值全血CRP样品浓度<10 mg/L,高值全血CRP样品浓度>80 mg/L,携带污染控制在1%以内。《YY/T 0654—2017 全自动生化分析仪》^[9]将携带污染定义为“由测量系统将一个检测样品反应携带到另一个检测样品反应的分析物不连续量,由此错误地影响了另一个检测样品的表现量”,与CLSI EP07-A3^[10]和WS/T 406^[8]定义一致,目的是观察高值样品对低值样品测定结果的影响,携带污染的原因可能为样品探针携带污染、比色杯携带污染、搅拌棒携带污染、管路携带污染等。携带污染的评估方法有临床结果回顾、利用高值 (浓度) 样品评估等不同方式。CLSI EP10-A3^[11]采用了比较复杂的实验设计和统计方法,将每批次待测物的高、中、低3个浓度水平的样品按照指定顺序排列,共10个样品,检测5个批次,计算有效批次的均值。《生化分析仪

携带污染的分析评估及处理方法专家共识》^[12]提出了携带污染与不精密度评价的共同评价方式,通过多个批次 (空白1-空白3) / (高4-空白3) 比值的均值确定携带污染。CLSI H26-A2^[13]和WS/T 406^[8]的计算方法更简易,即取1份高浓度的临床标本,混合均匀后连续测定3次;再取1份低浓度的临床标本,混合均匀后连续测定3次;按公式: |低1-低3|×100% / (高3-低3) 计算携带污染,本共识建议使用该方法。

4 重复性 (repeatability)

全血CRP浓度<10 mg/L时,建议全血CRP检测设备的变异系数 (coefficient of variation, CV) <10%;全血CRP浓度>10 mg/L时,建议CV<6%。重复性是指在一组重复性测量条件下的测量精密度。全血CRP重复性代表全血CRP测定结果的一致程度。要求在同一实验室,由同一操作人员,在同一设备上,使用同批号试剂,在3 h内对全血样品进行检测。验证方法参考《YY/T 1513—2017 C反应蛋白测定试剂盒》^[14]中的重复性检测方法,在线性区间范围内,选择2~3个不同浓度的样品。根据临床应用场景,以10 mg/L作为分界线,各浓度样品均重复测定10次,计算CV。本共识对重复性的要求是根据《CNAS-CL02-A003 医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明》^[15],并结合生物学变异导出的重复性指标和空间质量评价总误差要求导出的重复性指标,以及多中心研究的数据确定的。

5 中间精密度 (intermediate precision)

中间精密度指在一组期间精密度测量条件下的测量精密度。本共识结合多中心研究数据和CRP总误差导出的精密度要求,建议全血CRP检测设备中间精密度<10%。在不同文件中,中间精密度有不同的表达方法,WS/T 420^[6]中为“期间精密度”;《WS/T 492—2016 临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证》^[16] (简称WS/T 492) 中引用“实验室内精密度”的概念。CLSI EP15-A2^[17]制定了批内精密度和实验室内精密度验证方案,WS/T 492^[16]与CLSI EP15-A2^[17]的方案相同,要求连续测定5 d,每天1个分析批,每批2个浓度水平,每个浓度水平同一样品重复测定3次。CLSI EP05-A3^[18]制定了

精密度确认方案,较EP15-A2^[17]的方案略复杂,每天测定2个批次,连续测定20 d,但每批次测定次数减少为2次,同时包含了批内精密度、批间精密度、日间精密度和实验室内精密度。

6 线性 (linearity)

建议使用测量区间内高、低值CRP血清样品进行倍比稀释,得到不同浓度的样品,进行线性验证。全血CRP检测系统的线性需满足厂家说明书要求,其上限>100 mg/L,系列稀释样品的理论值与实测值的相关系数(r)>0.975,斜率为0.95~1.05。《WS/T 408—2012 临床化学设备线性评价指南》^[19](简称WS/T 408)将线性定义为:在给定的测量范围内,使测定结果与样品中分析物的量直接成比例的能力。使检测系统的最终分析结果为可接受的线性的浓度范围为线性范围。CLSI EP06-A^[20]为国际公认的定量检测系统线性评价的指南;WS/T 408^[19]建议选用与临床标本相似的样品进行线性评价,将高、低浓度样品进行倍比稀释,得到不同浓度的线性评价样品。为避免不同患者来源的全血样品混合造成的溶血,不建议用高、低浓度全血样品混合制备线性样品。用水稀释全血样品会因低渗造成细胞破坏、溶解,亦不推荐。0.9%氯化钠溶液可对全血样品进行稀释,且不会造成溶血,但在稀释CRP浓度的同时,也对血细胞进行了稀释,而临床上在用的多数全血CRP检测系统采用指定的血细胞比容(hematocrit, Hct)数值对全血CRP检测结果进行换算,与临床标本变化不定的Hct结果不一致,从而影响全血CRP的换算结果。因此,在检测系统不具备纠正Hct功能时,不建议使用0.9%氯化钠溶液稀释的全血样品进行线性验证,验证方法参考WS/T 420^[6]。

7 样品稳定性 (sample stability)

建议使用EDTA抗凝静脉全血样品,参考国际血液学标准化委员会2014年发布的*Guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting*^[21]中样品稳定性分析方法,样品在常温(18~25℃)或冷藏(2~8℃)条件下保存72 h,全血CRP检测设备的测定结果相对偏差均应<10%。CRP作为急性时相反应蛋白,其水平会随患者病情变化迅速波动,保存的患者临床

标本不能反映当前疾病状态,故不推荐长时间保存。但在特殊情况下,如临床对实验室检测结果有疑问,在复查CRP检测结果时,可以使用保存的临床标本。

8 Hct对全血CRP检测结果的影响

如果全血CRP检测设备有Hct自动修正功能,且实验室经过验证,证明全血CRP结果不受Hct影响,检测无需考虑Hct的影响;如果全血CRP检测设备无Hct自动修正功能,需根据Hct值对CRP结果进行手动修正,或在实验室信息管理系统上自动调出该患者同时进行的血细胞分析的Hct值,应设置修正公式,重新对CRP结果进行计算,修正公式为:全血CRP报告值=实测值/(1-Hct)。全血CRP检测与血清、血浆CRP检测的不同之处在于,全血CRP样品存在Hct的个体变异。Hct对全血CRP检测结果的影响已逐渐引起实验室人员的关注^[22-23]。部分与血常规联合检测的设备可根据Hct结果实时对全血CRP检测结果进行纠正,但大部分仪器是按Hct为40%进行血清/血浆模式与全血模式CRP结果的换算,这种方法对Hct为35%~45%的临床标本基本可行,但对于Hct极低或极高值的临床标本的影响不容忽视。

9 高三酰甘油 (triglyceride, TG)对全血CRP检测结果的干扰

对新采购的全血CRP检测设备,或对CRP检测系统进行全面性能评估时,建议进行高TG干扰验证,以相对偏差<10%为标准,得出可干扰CRP检测结果的TG浓度;对于采用手动加样的POCT设备,可结合重复性调整干扰指标标准。如果样品中TG浓度高于可干扰CRP检测结果的浓度,需更换采用其他方法学原理的仪器重新进行CRP检测。高TG临床标本较常见,TG可能通过2种途径影响CRP检测结果:第1种是磷脂诱导的CRP聚集导致可与抗体结合的CRP抗原含量减少^[24];第2种是脂质颗粒引起的直接光学效应^[25]。不同的检测设备、方法学原理、样品类型对TG干扰的敏感性有差异。有文献报道,TG浓度为34.0 mmol/L时,对CRP检测结果无明显干扰^[26];也有文献指出,当TG浓度达9.0 mmol/L时,对全血CRP POCT设备的检测结果有较大影响^[27]。第4版《全国临床检验操作规程》指出,

TG的参考区间为 $<1.7 \text{ mmol/L}$ ^[4], 验证方法参考 CLSI EP07-A3^[10], 本共识多中心的研究结果表明, 高血脂样品对目前在用的血细胞分析+全血CRP一体机和特定蛋白分析仪干扰较小, 当TG浓度达到 19.3 mmol/L 时, 与未加入TG的样品进行对比, 偏差 $<10\%$; 当TG $<15.5 \text{ mmol/L}$ 时, 与自动加样的POCT设备检测的样品相对偏差均 $<10\%$; 部分手动加样的POCT设备受重复性和干扰的双重作用, 相对偏差较大 ($<30\%$)。

10 高胆红素对全血CRP检测结果的干扰

高胆红素标本也是临床标本中比较常见的类型, 需评估此类标本对全血CRP检测结果是否有干扰, 验证方法参考CLSI EP07-A3^[10]。对新采购的全血CRP检测设备, 或对CRP检测系统进行全面性能评价时, 建议进行高胆红素干扰验证, 建议以相对偏差 $<10\%$ 为标准, 得出可干扰CRP检测结果的胆红素浓度。采用手动加样的POCT设备, 可结合重复性调整干扰指标标准。如果样品中胆红素浓度高过可干扰CRP检测结果的浓度, 建议采用其他方法学原理的仪器重新进行CRP检测。《WS/T 404.4—2018 临床常用生化检验项目参考区间》^[28]指出, 血清总胆红素的参考区间为 $<23 \mu\text{mol/L}$, 本共识采用 $432 \mu\text{mol/L}$ 的极高胆红素浓度进行干扰实验, 结果表明, 高胆红素样品对目前在用的血细胞分析+全血CRP一体机和特定蛋白分析仪干扰较小, 与未加入胆红素的样品进行对比, 偏差均 $<10\%$; 与采用自动加样的POCT设备检测的样品相对偏差 $<15\%$; 与采用手动加样的POCT设备检测的样品相对偏差 $<20\%$ 。

11 全血CRP检测结果与特定蛋白分析仪血清、血浆CRP检测结果的可比性 (comparison)

本研究根据全血CRP检测设备与经验证的特定蛋白分析仪进行对比, 医学决定水平免疫层析法相对偏差建议控制在 30% 以内, 比浊法建议控制在 20% 以内, 方法学及样品种类的不同均是引起偏差较大的原因。目前, 关于CRP检测的行业标准、专家共识、参考区间、溯源性参考物质均是以血清或血浆CRP检测结果为标准建立的, 因此全血CRP的检测结果要以血清或血浆CRP的检测结果为标准进行比对, 确保全血CRP检测结果可以满足临床诊疗的需要。CLSI EP09-A3^[29]提供了不同样品类型进行比对的方

法, 临床实验室可以参考。

12 正确度验证

为了确保全血CRP检测系统的溯源性, 需验证全血CRP检测设备的测量结果与参考物质靶值或者参考实验室赋值的血清CRP检测结果的一致性。正确度是无穷多次重复测量所得量值的平均值与1个参考量值间的一致程度, 正确度与准确度不同, 准确度指单次检测结果与参考值的一致程度, 包含系统误差和随机误差, 而正确度与随机误差无关, 仅与系统误差有关。WS/T 492^[16]中的正确度验证方案指出, 可以使用具有指定值的参考物质, 也可使用经参考实验室赋值的患者样品。本共识多中心临床研究的数据表明, 所有参与的单位 and 5个品牌均通过正确度验证。

执笔: 潘秋辉 (上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心); 向贇 (华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院); 马丽娟 (首都儿科研究所附属儿童医院); 佘尚扬 (广西壮族自治区妇幼保健院); 莫丽亚 (湖南省儿童医院); 叶铭辉 [厦门大学附属妇女儿童医院 (厦门市妇幼保健院)]; 郑磊 (南方医科大学南方医院)

专家组成员 (按所在单位拼音首字母排序): 安徽省儿童医院 (刘海鹏); 大连市妇女儿童医疗中心 (集团) (王雨新); 复旦大学附属儿科医院 (徐锦); 广西壮族自治区妇幼保健院 (佘尚扬); 贵阳市妇幼保健院/贵阳市儿童医院 (渠巍); 杭州市儿童医院 (吴亦栋); 河北省儿童医院 (李贵霞); 河南省儿童医院郑州儿童医院 (杨俊梅); 湖南省儿童医院 (莫丽亚); 华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院 (向贇); 江西省儿童医院 (柯江维); 昆明市儿童医院 (奎莉越); 南方医科大学南方医院 (郑磊); 南京医科大学附属儿童医院 (陈红兵); 内蒙古自治区妇幼保健院 (杨治理); 山东大学齐鲁儿童医院 (吕欣); 上海交通大学附属儿童医院 (张泓); 上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院 (唐振华); 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心 (潘秋辉、李怀远); 首都儿科研究所附属儿童医院 (马丽娟); 四川省妇幼保健院 (罗红权); 温州医科大学附属第二医院 (李向阳); 乌鲁木齐儿童医院 (张文

利)；西北妇女儿童医院(贾卉)；厦门大学附属妇女儿童医院(厦门市妇幼保健院)(叶辉铭)；徐州市儿童医院(田礼军)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

致谢 感谢上海交通大学医学院傅启华教授对本项目启动和执行过程中给予的大力支持；感谢上海交通大学医学院附属瑞金医院王剑颺教授对共识撰写提出宝贵建议；感谢上海市临床检验中心居漪教授、朱宇清教授对本共识中所涉及的技术路线及方法给予验证，并提出修改建议。

参考文献

- [1] SIMON L, GAUVIN F, AMRE D K, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Infect Dis, 2004, 39 (2): 206-217.
- [2] ROBERTS W L, MOULTON L, LAW T C, et al. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2[J]. Clin Chem, 2001, 47 (3): 418-425.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture[S]. H3-A6, CLSI, 2009.
- [4] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [5] 中国医师协会检验医师分会儿科疾病检验医学专家委员会, 世界华人检验与病理医师协会. 中国末梢采血操作共识[J]. 中华医学杂志, 2018, 98 (22): 1752-1760.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 420—2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2013.
- [7] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL037 临床化学定量检验程序性能验证指南[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2019.
- [8] 中华人民共和国卫生部. WS/T 406—2012 临床血液学检验常规项目分析质量要求[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [9] 国家食品药品监督管理总局. YY/T 0654—2017 全自动生化分析仪[S]. 北京: 国家食品药品监督管理总局, 2017.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry[S]. EP07-A3, CLSI, 2018.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory measurement procedures[S]. EP10-A3, CLSI, 2014.
- [12] 中华医学会检验医学分会临床化学学组. 生化分析仪携带污染的分析评估及处理方法专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43 (7): 712-717.
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute. Validation, verification, and quality assurance of automated hematology analyzers[S]. H26-A2, CLSI, 2013.
- [14] 国家食品药品监督管理总局. YY/T 1513—2017 C反应蛋白测定试剂盒[S]. 北京: 国家食品药品监督管理总局, 2017.
- [15] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02-A003 医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2018.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 492—2016 临床检验定量测定项目精密度与正确性能验证[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2016.
- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness[S]. EP15-A2, CLSI, 2008.
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures[S]. EP05-A3, CLSI, 2014.
- [19] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 408—2012 临床化学设备线性评价指南[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2012.
- [20] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach[S]. EP06-A, CLSI, 2003.
- [21] International Council for Standardization in Haematology. Guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting[S]. ICSH, 2014.
- [22] 隆维东, 李坚, 刘万斌. 不同红细胞压积对全血CRP测定的影响及校正措施[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33 (1): 107-109.
- [23] 马继荣, 周景艺, 顾怡, 等. HCT值实时修正全血CRP测定结果的评估[J]. 检验医学, 2018, 33 (11): 983-986.
- [24] TUGIRIMANA P L, HOLDERBEKE A L, KINT J A, et al. A new turbidimetric method for assaying C-reactive protein based on phosphocholine interaction[J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47 (11): 1417-1422.
- [25] DE HAENE H, TAES Y, CHRISTOPHE A, et al. Comparison of triglyceride concentration with lipemic index in disorders of triglyceride and glycerol metabolism[J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44 (2): 220-222.
- [26] SUNG H J, KIM J H, PARK R, et al. Evaluation of Denka-Seiken turbidimetric high-sensitivity C-reactive protein assay[J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40 (8): 840-845.
- [27] VEROUGSTRAETE N, VERBEKE F, DELANGHE J R. Exogenous triglycerides interfere with a point of care CRP assay: a pre-analytical caveat[J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 59 (4): e141-e143.
- [28] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. WS/T 404.4—2018 临床常用生化检验项目参考区间第4部分: 血清总胆红素、直接胆红素[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 2018.
- [29] Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples[S]. EP09-A3, CLSI, 2013.

(收稿日期: 2021-09-24)

(本文编辑: 李欣)