

## 论著 • 临床研究

## 流式微球捕获芯片技术检测血浆细胞因子方法学性能验证\*

张黎, 赖骞, 王彩燕, 林锋, 徐兵<sup>△</sup>

(厦门大学附属第一医院血液科, 福建 厦门 361003)

**[摘要]** 目的 对流式微球捕获芯片技术检测血浆中多种细胞因子方法学的性能进行验证。方法 依据中华人民共和国卫生行业及美国临床和实验室标准协会的标准文件, 应用流式微球捕获芯片技术检测血浆中的白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10 和肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 6 种细胞因子, 并对其精密度、准确度、线性范围、参考区间、最低检测限、抗干扰能力进行评价。结果 6 项细胞因子批内精密度变异系数(CV)为 1.50%~8.83%, 批间精密度 CV 为 2.48%~6.75%, 准确度相对偏差  $\leq \pm 15\%$ , IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- $\alpha$  在 2.5~5 000.0 pg/mL 的浓度范围内, IL-2R 在 5~7 500 U/mL 的浓度范围内, 线性范围良好。生物参考区间验证结果显示, 90% 的结果在厂家提供的生物参考区间范围内。IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- $\alpha$  的最低检出限为  $\leq 2.5$  pg/mL, IL-2R 最低检出限为  $\leq 5$  U/mL, 干扰物质(甘油三酯 10 mmol/L、血红蛋白 5 mg/L 和胆红素 258  $\mu$ mol/L)对试剂盒检测结果无影响。结论 在 mindray Bricyte E6 流式细胞仪上应用流式微球捕获芯片技术检测血浆细胞因子的方法性能较好, 可为临床提供准确可靠的 6 种细胞因子的定量检测结果。

**[关键词]** 白细胞介素-1 $\beta$ ; 白细胞介素-2R; 白细胞介素-6; 白细胞介素-8; 白细胞介素-10; 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 流式微球捕获芯片技术; 性能验证

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.19.006

中图法分类号: R446.1

文章编号: 1009-5519(2024)19-3271-05

文献标识码: A

**Methodological performance verification of flow microsphere capture chip technology for detecting plasma cytokines\***

ZHANG Li, LAI Qian, WANG Caiyan, LIN Feng, XU Bing<sup>△</sup>

(Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361003, China)

**[Abstract]** **Objective** To verify the performance of the flow microsphere capture chip technology in the detection of various cytokines in plasma. **Methods** According to the standard documents of the health industry of the People's Republic of China and the American Society of Clinical and Laboratory Standards, the six cytokines of interleukin (IL) -1 $\beta$ , IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in plasma were detected by flow microsphere capture chip technology, and the precision, accuracy, linear range, reference interval, minimum detection limit and anti-interference ability were evaluated. **Results** The intra-batch precision coefficient of variation (CV) of the six cytokines was 1.50%~8.83%, and the inter-batch precision (CV) was 2.48%~6.75%. The relative deviation of accuracy was  $\leq \pm 15\%$ . The concentration range of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- $\alpha$  was 2.5~5 000.0 pg/mL, and the concentration range of IL-2R was 5~7 500 U/mL. The linear range was good. The verification results of biological reference interval showed that 90% of the results were within the range of biological reference interval provided by the manufacturer. The minimum detection limits of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- $\alpha$  were  $\leq 2.5$  pg/mL, and the minimum detection limit of IL-2R was  $\leq 5$  U/mL. The interfering substances (triglyceride 10 mmol/L, hemoglobin 5 mg/L and bilirubin 258  $\mu$ mol/L) had no effect on the test results of the kit. **Conclusion** The method of detecting plasma cytokines by flow cytometric bead capture chip technology on mindray Bricyte E6 flow cytometry has good performance, which can provide accurate and reliable quantitative detection results of six cytokines for clinical practice.

**[Key words]** Interleukin-1 $\beta$ ; Interleukin-2R; Interleukin-6; Interleukin-8; Interleukin-10; Tumor necrosis factor  $\alpha$ ; Flow microsphere capture chip technology; Performance verification

\* 基金项目: 厦门市自然科学基金联合项目(3502Z20227346)。

作者简介: 张黎(1988-), 硕士研究生, 主管技师, 主要从事血液病及肿瘤免疫相关方面的研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xubingzhangjian

细胞因子是机体在受到免疫原、丝裂原或其他刺激剂的诱导下,机体内多种细胞合成、分泌的一类具有广泛生物学活性的小分子蛋白或多肽,按照功能可分为白细胞介素(IL)、干扰素(IFN)、肿瘤坏死因子(TNF)、集落刺激因子(CSF)、趋化因子和生长因子等,细胞因子的种类和水平随疾病的发生和发展而不断变化,细胞因子检测对疾病的辅助诊断、病情评估、疗效观察、预后具有重要应用价值<sup>[1-2]</sup>。目前,临床上检测细胞因子最常用的方法是双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)和基于流式细胞术的流式微球捕获芯片技术(CBA)<sup>[3]</sup>。ELISA 一次只能检测 1 种细胞因子,多种因子联合检测所需的标本量较大,且操作起来耗时耗力,效率低,对微量标本检测困难,现已不能满足临床所需,CBA 同时具有需要样本量少、省时、操作简单等诸多优点,可广泛适用于临床及科研进行高通量细胞因子的检测<sup>[4]</sup>。检测试剂盒在应用临床检测前,根据中国合格评定国家认可委员会制定的《医学实验室质量和能力认可准则》规定,实验室须对检测指标的相关性能进行方法学验证评估<sup>[5]</sup>。本实验室依据美国临床和实验室标准协会(CLSI)颁发的 EP15-A2、EP6-A 文件,以血浆细胞因子作为检测项目,使用 CBA 在 mindray Bricyte E6 流式细胞仪对细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- $\alpha$  的批内精密度、批间精密度、准确度、线性范围、参考区间、最低检测限、抗干扰能力等进行性能验证<sup>[6-7]</sup>。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

**1.1.1 一般资料** 采集本院 2022 年 40 例健康体检者的血浆标本,其中男 25 例,女 15 例;年龄 26~68 岁,中位年龄 55 岁。标本无溶血、脂血和血凝块。本研究按照赫尔辛基宣言进行,并获得厦门大学附属第一医院伦理委员会批准及受试者的知情同意。

**1.1.2 仪器与试剂** 仪器采用 mindray Bricyte E6 流式细胞仪,数据分析采用 Becton Dickinson 公司的 CBA 分析软件。试剂用旷博生物生产的 IL-1 $\beta$ /IL-2R/IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  检测试剂盒。试剂的批号:20220726、20220819、20221014。

**1.1.3 检测原理** 采用 AimPlex 多因子流式检测技术,利用 2 种不同尺寸(4  $\mu$ m 和 5  $\mu$ m),3 种不同荧光强度的微球群上分别包被 IL-1 $\beta$ /IL-2R/IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  特异性抗体与待测样本孵育,可与样本中 IL-1 $\beta$ /IL-2R/IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  抗原特异性结合,之后加入生物素标记的检测抗体,形成抗体包被微球-细胞因子-检测抗体的“三明治”免疫复合物;最后加入链霉亲和素藻红蛋白(SA-PE),与生物素结合,最终在流式细胞仪上检测相应荧光,再结合细胞因子标准品的标准曲线,从而实现同一份样本同时进行 IL-1 $\beta$ /IL-2R/IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  的定量检测。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验准备** 静脉全血样本用肝素采血管收集,1 000~1 200 g 离心 15 min,待检。

**1.2.2 标准曲线制定** 按试剂盒说明依照 1:1、1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256 共 9 种浓度,完成细胞因子的标准品的梯度稀释,另外留一支空白对照。

**1.2.3 实验操作** 待检血浆样品,取上清 20  $\mu$ L 置于流式上样管,同时加 20  $\mu$ L 捕获微球,涡旋混匀,室温避光振荡孵育 2 h(振荡频率为 500 r/min)。然后每个流式上样管中加入 20  $\mu$ L SA-PE 液,室温避光振荡孵育 30 min(振荡频率为 500 r/min)。之后加入 300  $\mu$ L 1 $\times$ 缓冲液,涡旋 10~20 s,500 g 离心 5 min,弃上清洗去非特异染色,最后每个流式上样管再加入 300  $\mu$ L 1 $\times$ 缓冲液,涡旋 10~20 s,上机检测,分析检测结果。

**1.2.4 批内精密度验证试验** 参照中华人民共和国卫生行业标准 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》<sup>[8]</sup>的要求,采用 2 种不同值的具有溯源性的校准品,P1(低值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 50 pg/mL,IL-2R 浓度为 100 U/mL;P2(高值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 1 500 pg/mL,IL-2R 浓度为 2 500 U/mL。使用同一个批次的试剂(批号:20220726)对精密度校准品进行为期 5 d 的连续检测,每天对同一浓度的精密度具有溯源性的校准品进行 5 次测定,每份标本得到 25 组数据。统计结果,计算其变异系数(CV)值。判断标准:厂家提供的精密度范围的 CV $\leq$ 10%,若本实验室批内数据的 CV $\leq$ 10%,则表明批内精密度验证通过。

**1.2.5 批间精密度验证试验** 采用 2 种不同值的具有溯源性的校准品,P1(低值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 50 pg/mL,IL-2R 浓度为 100 U/mL;P2(高值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 1 500 pg/mL,IL-2R 浓度为 2 500 U/mL。使用 3 个批号的试剂(批号:20220726、20220819、20221014)对精密度校准品进行为期 5 d 的连续检测,每天对同一浓度的精密度具有溯源性的校准品进行 5 次测定,每份标本得到 75 组数据。统计结果,计算其 CV 值。判断标准:厂家提供的精密度范围的 CV $\leq$ 15%,若本实验室批内数据的 CV $\leq$ 15%,则表明批内精密度验证通过。

**1.2.6 正确度验证的方案** 采用 2 种不同值的具有溯源性的不同批次的校准品(批号:202207260),P1(低值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 50 pg/mL,IL-2R 浓度为 100 U/mL;P2(高值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 1 500 pg/mL,IL-2R 浓度为 2 500 U/mL。使用不同批次的试剂(批号:20220819)对准确度校准品进行为期 5 d 的连续检测,每天对同一浓度的准确度校准品进行 3 次测定,每份

标本得到 15 组数据,记录数据并分析统计结果。判断标准:对厂家提供的 2 种不同值的具有溯源性的校准品进行连续 3 次检测,连续检测 5 d,其相对偏差在  $\pm 15\%$  以内,则通过厂家声明的验证。

**1.2.7 线性范围验证的方案** 参照中华人民共和国卫生行业标准 WS/T408-2012《临床化学设备线性评价指南》<sup>[9]</sup>。旷博 6 因子说明书中给出的 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- $\alpha$  线性范围均为 2.5~5 000.00 pg/mL,IL-2R 线性范围为 5~7 500 U/mL。9 份线性参考品浓度:IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- $\alpha$  分别为 0.76、2.29、6.86、20.58、61.73、185.19、555.56、1 666.67、5 000.00 pg/mL,IL-2R 分别为 1.14、3.43、10.29、30.86、92.59、277.78、833.33、2 500.00、7 500.00 U/mL,范围包括预期的整个可检测报告范围。使用同一个批次的试剂(批号:20220726)对以上 9 份参考品进行检测,每种浓度随机、重复测定最少 3 次,1 d 内完成,共得到最少 27 个数据,记录数据并统计结果。判断标准:以 Grubbs 法剔除离群值用回归方程的线性检验,判断是否为非线性。依照系列浓度血清的配制稀释关系计算出各实验样品内含分析物的浓度,即为系列样品的理论值。按实验要求对系列浓度血清进行重复测定,计算均值,此值为系列浓度样品的实测值,和理论值形成 9 对理论值、实测值。各份实测均值与理论值进行相关分析。各细胞因子相关系数( $r$ )均不低于 0.99。

**1.2.8 参考区间的验证方案** 参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)C28-A3C 的文件<sup>[10]</sup>,随机选取 40 例健康的男女性体检标本进行检测。判断标准:先初步检查所得的检测数据,用 1/3 规则判断数据中是否出现离群值,如有离群值存在必须剔除,并用其他标本替换。判断标准为  $R$  值  $\geq 90\%$ 。按以下公式计算  $R$  值: $R = \text{检测值在引用参考区间的个体}$

数/总个体数  $\times 100\%$ 。

**1.2.9 最低检测限验证方案** 参考 EP6-A 文件,将 2 种标准品稀释到试剂盒说明书标示的最低检出限浓度,IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  最低检测浓度为 2.5 pg/mL,IL-2R 最低检测浓度为 5 U/mL,重复检测 25 次,阳性检出率  $> 80\%$  为合格。

**1.2.10 干扰验证试验方案** 在 2 种具有溯源性的校准品,P1(低值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 50 pg/mL,IL-2R 浓度为 100 U/mL;P2(高值):IL-1 $\beta$ /IL-6/IL-8/IL-10/TNF- $\alpha$  浓度为 1 500 pg/mL,IL-2R 浓度为 2 500 U/mL,其中加入终浓度甘油三酯 10 mmol/L、血红蛋白 5 mg/L 和胆红素 258  $\mu\text{mol/L}$  的干扰物(厂家声明的最高抗干扰水平),分别测定 2 次各校准品中 IL-1 $\beta$ 、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- $\alpha$  浓度,并计算其偏差,偏差应在厂家提供的干扰偏差(10%)范围内。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS18.0 进行数据分析及处理,计算出相应的相对偏差和 CV。计数资料以例数或百分率表示。线性验证中各浓度理论值与实测值关系采用线性回归分析。

## 2 结果

**2.1 批内精密度验证结果** 对厂家提供的低值和高值 2 种浓度的校准品进行批内精密度试验,6 种细胞因子的校准品连续检测 5 d,结果见表 1,无论是低值和高值批内 CV 均  $\leq 9\%$ ,小于厂家声明的精密度(批内 CV  $\leq 10\%$ )。

**2.2 批间精密度验证结果** 使用 3 个批号的试剂对精密度校准品进行为期 5 d 的连续检测,每天对同一浓度的精密度具有溯源性的校准品进行 5 次测定。结果见表 2,无论是低值和高值批内 CV 均  $\leq 7\%$ ,小于厂家声明的精密度(批内 CV  $\leq 15\%$ )。

表 1 6 种细胞因子批内精密度验证(%)

细胞因子	低值批内 CV					高值批内 CV				
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
IL-1 $\beta$	8.03	4.09	6.65	6.73	7.43	2.93	3.45	4.25	5.47	5.37
IL-2R	3.84	4.57	3.39	3.90	4.21	4.20	8.52	3.95	7.61	2.16
IL-6	3.81	6.02	5.52	4.54	7.51	6.37	2.22	4.46	4.46	2.38
IL-8	4.96	4.09	6.27	6.74	5.17	4.86	4.64	3.46	2.69	3.69
IL-10	8.83	8.61	6.01	7.19	6.30	3.38	4.33	3.48	4.06	3.40
TNF- $\alpha$	5.14	1.50	6.22	5.62	5.09	3.18	3.60	3.75	4.60	3.29

**2.3 正确度验证的结果** 厂家提供的 2 种不同值的具有溯源性的校准品连续检测 3 次,连续检测 5 d,测定结果及统计分析见表 3。低值的相对偏差在  $\pm 11\%$ ,高值的相对偏差在  $\pm 6\%$ ,其相对偏差均在厂家声明的  $\pm 15\%$  以内。

**2.4 线性范围验证的结果** 对 9 份参考品进行检测,记录数据并统计结果,见表 4,决定系数  $R^2 \geq 0.98$ 。6 种细胞因子的检测结果在范围内呈线性,见图 1,符合准确度要求。

**2.5 参考区间验证试验结果** IL-1 $\beta$ 、IL-2R、IL-6、

IL-8、IL-10、TNF-α 的 R 值分别为 90%、93%、100%、98%、90%、100%，均 ≥ 90%，符合要求。见表 5。

表 2 6 种细胞因子批间精密验证 (%)

细胞因子	低值批间 CV					高值批间 CV				
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
IL-1β	5.00	5.81	5.23	5.02	6.75	2.77	5.70	3.44	5.02	4.25
IL-2R	3.39	4.15	4.49	5.42	4.60	5.12	6.74	4.77	5.42	4.79
IL-6	4.60	5.75	6.08	4.19	5.28	5.20	2.48	3.68	4.19	3.19
IL-8	5.76	5.38	5.33	3.73	5.35	4.04	4.03	3.52	3.73	2.97
IL-10	5.82	6.88	6.49	4.03	5.59	4.78	3.66	2.72	4.03	2.88
TNF-α	5.08	6.34	5.57	4.81	5.16	4.11	3.79	3.84	4.81	3.79

表 3 6 种细胞因子正确度验证 (%)

细胞因子	低值相对偏差					高值相对偏差				
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
IL-1β	4.10	3.48	7.07	3.73	6.25	4.32	3.68	1.12	0.54	-2.42
IL-2R	5.57	10.80	6.35	7.09	6.79	-1.77	-3.14	-4.89	-4.08	-3.69
IL-6	8.24	-4.11	-3.49	-0.11	5.42	0.09	1.63	0.42	-0.92	-1.28
IL-8	4.14	-3.26	2.00	3.95	0.86	-0.28	2.29	1.46	-1.93	0.48
IL-10	-1.09	-3.72	-1.05	1.97	5.98	1.18	0.41	0.73	5.07	-2.88
TNF-α	-1.67	-2.24	4.85	7.09	4.17	-1.62	2.55	2.94	0.99	2.42

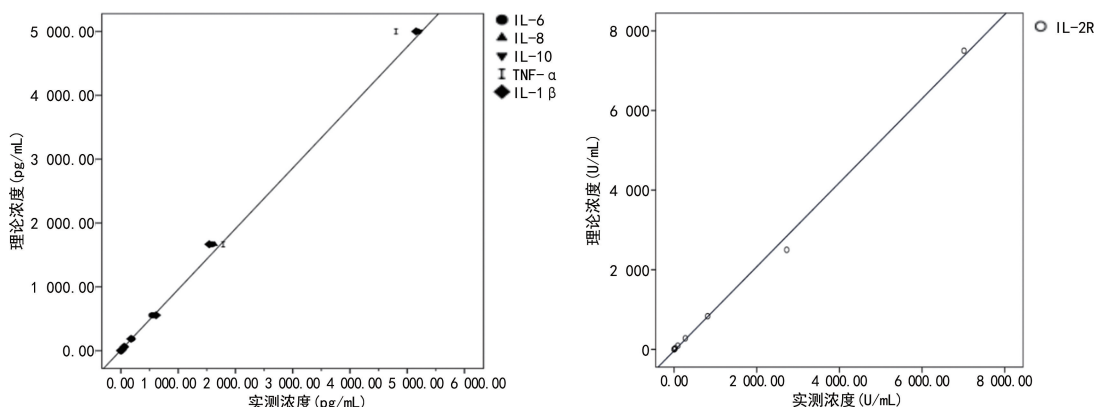


图 1 6 种细胞因子线性验证

表 4 6 种细胞因子线性范围验证

细胞因子	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	回归方程	R <sup>2</sup>	厂家声明的 R <sup>2</sup>
IL-1β	0.00	3.23	8.63	11.44	57.13	169.07	528.38	1 621.26	4 795.73	y=1.041 0x+1.108 3	0.998 7	0.990 0
IL-6	0.60	2.75	5.76	17.00	58.52	186.13	488.50	1 526.20	5 251.56	y= 0.968 9x+15.468 0	0.999 4	0.990 0
IL-8	0.18	2.30	6.80	20.28	64.64	183.32	547.90	1 634.71	5 199.27	y=0.964 1x+12.762 0	0.999 6	0.990 0
IL-10	0.11	2.10	6.60	21.59	67.05	190.23	546.45	1 545.40	5 221.87	y=0.962 6x+20.273 0	0.998 6	0.990 0
TNF-α	0.38	2.73	6.04	16.83	67.41	181.39	495.61	1 561.11	4 965.90	y=1.032 1x-17.498 0	0.998 6	0.990 0
理论值	0.76	2.29	6.86	20.58	61.73	185.19	555.56	1 666.67	5 000.00	—	—	—
IL-2R	0.00	3.59	10.62	30.02	90.02	271.98	811.37	2 724.59	7 015.49	y=1.067 8x-30.790 0	0.997 2	0.990 0
理论值	1.14	3.43	10.29	30.86	92.59	277.78	833.33	2 500.00	7 500.00	—	—	—

注：—表示无此项。

表 5 6 种细胞因子参考区间验证

细胞因子	厂家提供的参考区间	测得结果 R 值 (%)	允许 R 值 (%)	判断
IL-1 $\beta$	$\leq 11.2$ pg/mL	90	90	符合
IL-2R	223~710 U/mL	100	90	符合
IL-6	$\leq 7.0$ pg/mL	98	90	符合
IL-8	$\leq 19.7$ pg/mL	93	90	符合
IL-10	$\leq 5.5$ pg/mL	100	90	符合
TNF- $\alpha$	$\leq 5.1$ pg/mL	90	90	符合

**2.6 最低检测限验证结果** 对低于最低检测浓度的标本重复 25 次测定,阳性检出率均为 100%。

**2.7 干扰验证试验结果** 在 3 种干扰物质(甘油三酯、血红蛋白和胆红素)的作用下,干扰偏差 $\leq 10\%$ ,对细胞因子检测的结果无显著干扰,因此试剂盒抗干扰能力合格。

### 3 讨论

目前检测细胞因子的方法主要有细胞分析法、免疫分析法、聚合酶链反应技术等<sup>[11]</sup>。CBA 是一种新兴的分子生物学技术,是将微球技术、荧光技术、激光技术及流体技术整合为一体的液相多重蛋白定量技术,CBA 检测细胞因子是借助特征性荧光颗粒,结合免疫学双抗体夹心法原理,实现对多种可溶性细胞因子蛋白精准和高通量的检测<sup>[12-14]</sup>。该方法具有检测速度快、定量准确性好、使用少量样本即可同时检测多种细胞因子等优势,是固相酶联免疫吸附检测的一项良好的替代技术,在临床诊断、蛋白质检测及药物研发等医学研究领域具有广阔的应用前景,并发展迅速。

现已有多种商品化检验试剂,理论上不同的检测试剂均适用于通用流式仪器和分析软件,但是仪器型号和性能不同、试剂厂家不同、检测技术略有差异。检测技术及配套试剂的良好性能是保证检验结果准确可靠的前提,因此为了确保检测结果准确可靠,对检测技术及试剂的性能进行验证评价至关重要。本研究参照中华人民共和国卫生行业及美国临床实验室标准委员会制定的相关指南对旷博公司生产的 6 种细胞因子检测试剂盒的精密性、正确度、线性范围、生物参考区间、最低检测限、抗干扰能力等进行验证。

本实验结果显示,2 种不同浓度水平校准品批内精密度的 CV 为 1.50%~8.83%,批间精密度的 CV 为 2.48%~6.75%,符合市售试剂盒精密性要求(批内、批间 CV 均小于 10%),在临床可接受范围内。评价试剂盒的优劣,正确度也是非常关键的指标,没有良好的正确度就不能给临床提供准确的结果<sup>[15]</sup>。本实验室正确度验证的试验结果显示,不论高值低值相对偏差在 $\pm 15\%$ 以内,在允许的偏倚之内。在临床检验工作中,研究者希望试剂盒的线性范围在一定范围内越宽越好,IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- $\alpha$  在

2.5~5 000.0 pg/mL 浓度范围内,IL-2R 在 5~7 500 U/mL 浓度范围内。线性相关系数 $R^2 \approx 1$  大于允许的 0.99,试剂盒的线性关系良好,符合要求。正确适用的生物参考区间对临床有重要的价值,否则易导致误诊、漏诊情况的发生,因此验证试剂盒的生物参考区间是否适用于本实验室也成为试剂盒性能评价的项目之一<sup>[16]</sup>。本实验的测定结果显示,6 种细胞因子 90%的测定数据均在厂家提供的生物参考区间内,说明厂家声明的生物参考区间有效,可适用于本实验室。甘油三酯 10 mmol/L、血红蛋白 5 mg/L 和胆红素 258  $\mu$ mol/L 对试剂盒检测结果无影响。

综上所述,基于 CBA 检测细胞因子的方法学性能良好,6 种细胞因子检测试剂盒和厂家声明的一致,具有良好、合适的精密性、正确度、线性范围,参考区间及抗干扰能力,IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- $\alpha$  的最低检出限为 $\leq 2.5$  pg/mL,IL-2R 最低检出限为 $\leq 5$  U/mL,满足临床需求,可为临床提供准确和可信的 6 种细胞因子的定量检测结果。

### 参考文献

- [1] 陈怡慧,董鹏,张喜洋. 促炎细胞因子在脓毒症中作用的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2023,35(2):212-216.
- [2] JARCZAK D,NIERHAUS A. Cytokine storm-definition, causes, and implications [J]. Int J Mol Sci,2022,23(19):11740.
- [3] 唐甜,王盼,刘宇思,等. 不同预处理方法消除流式细胞术检测细胞因子分析干扰的效果[J]. 中国医科大学学报,2022,51(12):1062-1068.
- [4] BOMERT M,KÖLLISCH G,ROPONEN M,et al. Analytical performance of a multiplexed, bead-based cytokine detection system in small volume samples[J]. Clin Chem Lab Med,2011, 49(10):1691-1693.
- [5] 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,CNAS CL02-2012[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2012:32-37.
- [6] CLSI. EP15-A2 User verification of performance for pre-precision and trueness[S]. Wayne, PA:CLSI,2005.
- [7] CLSI. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach[S]. Wayne,PA:CLSI,2003.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 临床检验定量测定项目精密性与正确度性能验证,WS/T 492-2016[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2016:2-10.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 临床化学设备线性评价指南,WS/T 408-2012[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2012:1-10. (下转第 3280 页)