

体外诊断试剂注册检测的不同灵敏度概念之详解

黄杰 高尚先 张艳丽 于泳

体外诊断试剂的种类很多,影响试剂质量的因素也很多,为保证试剂质量,须要设定合理的技术指标进行系统的实验室以及临床评价。灵敏度作为一项重要的技术指标,对试剂盒的评价具有重要意义。因为极少量的分析物可能对界定疾病状态、疾病筛查或揭示是否存在有毒物质、污染物质、传染病原体等具有重要意义。当前,企业标准中各种术语使用混乱,如灵敏度、分析灵敏度、最低检测限、功能灵敏度、检出限、定量限等,实验室和临床经常将最低检测限、检出限、灵敏度或分析灵敏度等互换使用。本文对在检测中遇到的各种灵敏度检测方法进行阐述。

不同术语的含义

ISO18113中指出,检验医学中“灵敏度”有两个不同但相关联的含义:具有适当的可信限度,可以区分最小的浓度改变或变化;具有适当的可信限度检出分析物的最小浓度或量。

在相当长的一段时间内检出限与灵敏度这两个相关但又不同的概念常被混淆或等同起来。存在这种混淆是因为这两个术语互相关联——两者都被认为有方法“灵敏”的特性。实际上,理想的方法是描述为具有高的分析灵敏度水平和低的检出限。

分析灵敏度为:国际理论和应用化学联合会(IUPAC)将方法的分析灵敏度定义为校准曲线的斜率及对于规定量的变化分析程序产生信号的变化。事实上,即使斜率校准曲线是陡峭的,如果测量信号变异系数高,可以可靠检测的最低检测限可能较大。与此相反,校准曲线斜率较小,但测量信号变异系数低,可以可靠检测的最低检测限较小。

空白限值是指在无分析物样本检测中一定概率下的最大值。

检出限与最低检测限含义一致,国际理论和应用化学联合会IUPAC将检出限定

义为给定分析程序具有适当的可信限度检出分析物的最小浓度或量。检出限依赖于空白读数大小,并且被认为与测量的精密度有关。

定量限在ISO18113中定义为给定分析程序能定量检测分析物的最小浓度或量。

功能灵敏度定义为:以日间重复变异系数为20%时对应检测限样品具有的平均浓度,确定检测系统或方法可定量报告分析物的最低浓度或其他量值的限值。功能灵敏度最初主要用于评价甲状腺激素和促甲状腺激素的免疫学测定,功能灵敏度已被错误地应用于其他激素,目前它比定量限和检出限并不具有任何优势。

临界值是指分析检测时的特定量值水平,该水平用于决定分析检测是否高于或低于临床或分析决定水平(通常是阴性或阳性)。

不同灵敏度的检测方法

确定空白限值的一般方法为:对于一个给定的检测方法,开发或制造商测定后给出一系列空白样本的结果和一系列低浓度样本的结果。空白样品的测定用于提供一个阈值,从而可以判断在测定结果比阈值高的样本中含有分析物。

对于空白检测值对称分布的情况,可通过检测一定数量的阴性样品或正常样品,样品的数量要根据样品的离散情况来定,计算样品的均值及标准差,均值加上2个标准差即为空白限值,即在空白限值以上的样品有95%的可能为真阳性。检测方法常用以零浓度校准品或样本稀释液作为样本,重复测定20次,计算20次测量结果RLU(相对发光值)的平均值(M)和标准差(SD),得出 $M+2SD$ 的RLU值,然后再转换成浓度单位。

对于检测值小于零不报道或非对称分布的空白值(非高斯分布的空白值),95%分位值必须用其他方法。最直接的方法是

应用统计原理基于值大小排列,95%百分位数可估计为空白限值。

要确定检出限必须考虑寻找一个检测结果有特定概率的可能性超过空白限值的最小浓度样本,如检测结果95%的可能性超过空白限值。在实际工作中应采用考察空白限值的同时进行多份低浓度样本的检测,计算低浓度样本的总标准偏差,根据公式 $LOD = LOB + c \beta SD$ 计算检出限,其中LOD为检出限、LOB为空白限值、 $c \beta$ 为校正因子、SD为低浓度样本的总标准偏差。在验证检出限时采用的方法为检测含有标示检出限量值浓度的样本,计算检测结果超出空白限值的比例。

定量限确定的方法和检出限类似,验证方法也类似。

在定性试验中进行临界值的确定有许多种方法。如以阴性对照均值加上两倍或三倍标准偏差作为临界值、以百分位数法单侧95%或99%来确定临界值、使用ROC曲线(receiver operating characteristic)设定临界值等。临界值的验证可以通过制备在临界值上下20%左右浓度的样本进行。一般来说,临界值上下20%左右为95%区间。可以进行重复检测,看检测结果是否满足95%的阴性和95%的阳性,从而判断临界值的确定是否合适。

美国国家临床标准研究院(CLSI)发布了EP-17的标准化文件。该文件提出空白限值(LOB)、检出限(LOD)以及定量限(LOQ)的定义和实验方案。

(第一、二作者单位为中国药品生物制品检定所,第三、四作者单位为北京市药品监督管理局医疗器械技术审评中心)

