·论　　著·

# 基于 EP9-A3 评价第 1、2 代 Tg 及甲状腺抗体检测试剂一致性

薛　雨，刘　杉△

（重庆医科大学附属儿童医院核医学科/国家儿童健康与疾病临床医学研究中心/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/儿童代谢与炎症性疾病重庆市重点实验室，重庆 400014）

［摘　要］ **目的**　分析第 1、2 代甲状腺球蛋白（Tg）、甲状腺过氧化物酶抗体（TPOAb）、甲状腺球蛋白抗体（TgAb）、促甲状腺激素受体抗体（TRAb）检测试剂的一致性。**方法**　收集该实验室临床检测剩余标本，使用深圳新产业生物医学工程公司 MAGLUMI X8 化学发光仪进行双试剂双份平行试验。参照美国临床实验室标准化协会（CLSI）的 EP9-A3 文件对该公司提供的 2 代 Tg、TPOAb、TgAb、TRAb 检测试剂进行方法学比对及偏倚评估。**结果**　与第 1 代试剂相比，第 2 代试剂的线性范围有所扩大，制造商提供的参考区间发生一定变化。第 2 代试剂对标本类型要求放宽，有利于降低临床采样错误率。Tg 的回归方程斜率为 1.024，截距为 0.385，±1.96 残差标准差（*RSD*）区间适中；TRAb 的回归方程斜率为 0.936，截距为 0.151，±1.96*RSD* 区间较小。而在 TPOAb 和 TgAb 的回归分析中，斜率 95%*CI* 分别为 0.189～0.286、0.863～0.921，均不包含 1，±1.96*RSD* 区间过大。检测 Tg 时，2 代试剂间相对偏差的均值为 1.9%［95%一致性界限（LoA）：－11.8%～15.6%］，在可接受范围内。检测 TPOAb 时，2 代试剂间相对偏差的均值为－82.4%（95%LoA：－216.8%～52.1%），不可接受。检测 TgAb 时，2 代试剂间相对偏差的均值为－27.9%（95%LoA：－125.2%～69.4%），不可接受。检测 TRAb 时，2 代试剂间相对偏差的均值为－4.1%（95%LoA：－34.2%～26.0%），不可接受。Tg、TgAb 和 TRAb 在各医学决定水平处的预期偏倚均小于可接受水平，而 TPOAb 在各医学决定水平处的预期偏倚不可接受。**结论**　2 代试剂检测 Tg 时的一致性较好，结果偏倚可接受；检测 TgAb、TRAb 的一致性一般，偏倚可接受；检测 TPOAb 时的一致性和偏倚不理想。

［关键词］ 甲状腺球蛋白；　甲状腺过氧化物酶抗体；　甲状腺球蛋白抗体；　促甲状腺激素受体抗体；　一致性；　偏倚

**DOI**：10.3969/j.issn.1009-5519.2025.02.004　　**中图法分类号**：R392-33

**文章编号**：1009-5519（2025）02-0303-05　　**文献标识码**：A

## Consistency evaluation of the first and second generation Tg and thyroid antibody detection reagents based on EP9-A3

*XUE Yu，LIU Shan*△

（*Department of Nuclear Medicine，Children's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University/National Clinical Research Center for Child Health and Disease/Ministry of Education Key Laboratory of Child Developmental Disease/Chongqing Key Laboratory of Child Metabolism and Inflammatory Disease，Chongqing* 400014，*China*）

［**Abstract**］ **Objective**　To analyze the consistency of the first and second generation thyroid protein（Tg），thyroid peroxidase antibody（TPOAb），thyroid globulin antibody（TgAb），and thyroid stimulating hormone receptor antibody（TRAb）detection reagents. **Methods**　The remaining specimens for clinical testing in the laboratory were collected，and the double-reagent double parallel test was carried out with MAGLUMI X8 chemiluminescence instrument of Shenzhen New Industry Biomedical Engineering Company. According to the EP9-A3 document of the American Clinical Laboratory Standardization Association（CLSI），the methodology comparison and bias assessment of the second-generation Tg，TPOAb，TgAb and TRAb detection reagents provided by CLSI were carried out. **Results**　Compared with the first generation reagent，the linear range of the second generation reagent had been expanded，and the reference interval provided by the manufacturer had changed. The second generation reagents had relaxed requirements for specimen types，which was conducive to reducing the error rate of clinical sampling. The slope of the regression equation of Tg was 1.024，the intercept

**作者简介**：薛雨（1994－），硕士研究生，住院医师，主要从事核医学体外分析方面的研究。　△ **通信作者**，E-mail：29400289@qq.com。

was 0.385, and the ±1.96 residual standard deviation(*RSD*) interval was moderate. The slope of the regression equation of TRAb was 0.936, the intercept was 0.151, and the ±1.96*RSD* interval was small. In the regression analysis of TPOAb and TgAb, the 95%*CI* of slope was 0.189－0.286 and 0.863－0.921, respectively, which did not include 1, and the ±1.96*RSD* interval was too large. When Tg was detected, the mean relative deviation between the two generations of reagents was 1.9%[95% limit of agreement(LoA): －11.8%－15.6%], which was within the acceptable range. The mean relative deviation between the two generations of TPOAb was －82.4%(95%LoA: －216.8%－52.1%), which was unacceptable. When TgAb was detected, the mean relative deviation between the two generations of reagents was －27.9%(95%LoA: －125.2%－69.4%), which was unacceptable. When TRAb was detected, the mean relative deviation between the two generations of reagents was －4.1%(95%LoA: －34.2%－26.0%), which was unacceptable. The expected bias of Tg, TgAb and TRAb at all medical decision levels was less than the acceptable level, while the expected bias of TPOAb at all medical decision levels was unacceptable. **Conclusion** The consistency of Tg detected by the second generation reagent is good, and the bias of the results is acceptable. The consistency of TgAb and TRAb is general, and the bias is acceptable. The consistency and bias of TPOAb are not ideal.

[**Key words**] Thyroid protein; Thyroid peroxidase antibody; Thyroid globulin antibody; And thyroid stimulating hormone receptor antibody; Uniformity; Bias

血清甲状腺球蛋白(Tg)水平与甲状腺大小、受损程度及体内相关激素水平有关，能一定程度反映甲状腺滤泡细胞的破坏情况。Tg 可作为群体碘营养水平评价的辅助指标[1-2]，更是分化型甲状腺癌(DTC)切除术和放射性碘消融术后检测的敏感标志物[3]。甲状腺球蛋白抗体(TgAb)的存在会干扰 Tg 的检测，所以在 DTC 患者术后随访过程中 TgAb 常作为 Tg 的伴随检测项目[4-5]。甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、TgAb 及促甲状腺激素受体抗体(TRAb)均为甲状腺自身抗体，是桥本氏甲状腺炎、Graves'病等自身免疫性甲状腺疾病的重要随访指标。研究认为，TPOAb 水平显著升高是亚临床甲状腺功能减退(甲减)向需要治疗的甲减转变的预测因子[6]。此外，对于病因不明的脑病患者，应考虑检测血清甲状腺抗体水平[7-8]，以鉴别是否存在桥本脑病。

本实验室使用深圳新产业生物医学工程公司提供的第 1 代试剂进行 Tg 和甲状腺自身抗体检测。目前，该公司推出了性能优化后的第 2 代试剂。第 1 代与第 2 代试剂的对比分析有利于判断是否需要重新建立参考区间，以免使用时产生偏倚，影响临床医生对结果的解读，从而耽误患者的诊断与治疗。

## 1　资料与方法

**1.1**　一般资料　每天收集本实验室临床检测剩余低、中、高水平 Tg 标本各 4 份，连续 5 d，共收集 60 份；同理，收集低、中、高水平 TPOAb 标本(共 60 份)和 TgAb 标本(共 60 份)，低、高水平 TRAb 标本(共 40 份)。纳入标准：当天采集的新鲜血液标本，患者年龄 0～18 岁。排除标准：脂血、溶血、黄疸血标本。本研究经医院医学伦理委员会批准[(2024)年伦审(研)第(9)号]。

**1.2**　方法　2 代试剂在相同条件下进行双份平行测定，结果取均值。所有检验均在当天质控合格的前提下进行。根据本实验室自建的第 1 代试剂参考区间及仪器测定范围定义：低、中、高水平 Tg 分别为 1～55、56～200、201～500 ng/mL，低、中、高水平 TPOAb 分别为 1～30、31～500、501～1 000 IU/mL，低、中、高水平 TgAb 分别为 1～95、96～1 000、1 001～2 800 IU/mL，低、高水平 TRAb 分别为 1～10、11～30 IU/L。采用深圳新产业生物医学工程公司的全自动化学发光免疫分析仪 MAGLUMI X8 进行检测，所用试剂包括：Tg Ⅰ/TPOAb Ⅰ/TgAb Ⅰ/TRAb Ⅰ(第 1 代试剂)试剂盒及其配套校准品、质控品，Tg Ⅱ/TPOAb Ⅱ/TgAb Ⅱ/TRAb Ⅱ(第 2 代试剂)试剂盒及其配套校准品、质控品。

参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)的 EP9-A3 文件，以 Tg 及甲状腺自身抗体第 1 代试剂盒作为比较方法，升级后的相应第 2 代试剂盒作为试验方法。设比较方法检测的结果为 $X$ 值，试验方法检测的结果为 $Y$ 值。采用广义极端学生化偏差(ESD)方法进行离群值剔除，不服从正态分布的数据采用盒形图查看离群值。如存在离群值，剔除后需补足样本。作散点图和相对差异图对数据进行初步评估，从而选择回归模型。选择 Passing-Bablok 回归模型进行拟合，数据以回归方程 $Y=a+bX$ 表示，a 和 b 分别表示 2 代试剂间的系统偏倚和比例偏倚。采用残差标准差(*RSD*)表示 2 代试剂的随机差异[9]。对服从正态分布的数据进行 Pearson 相关性分析，非正态分布的数据进行 Spearman 相关分析，其中 $r>0.9$ 表示相关性

极强[10]。绘制 Bland-Altman 图，对数据进行一致性评价。以 $Y$ 与 $X$ 的均值为横坐标，$(Y-X)$/均值为纵坐标，观察大部分的点是否落在 95%一致性界限(LoA)内，且分布在平均相对偏差值附近。同时，判断这些点是否在可接受范围内。此处参照国家室间质量评价中 Tg 的最大允许总误差，以相对偏差在±25%内为宜。结合制造商标注的参考区间和本实验室建立的第 1 代试剂参考区间，将 55、97、129 ng/mL 作为 Tg 的医学决定水平，将 10、30 IU/mL 作为 TPOAb 的医学决定水平，将 40、95 IU/mL 作为 TgAb 的医学决定水平，将 1.5 IU/L 作为 TRAb 的医学决定水平，并分别计算在医学决定水平处的预期偏倚。

**1.3　统计学处理**　采用 SPSS23.0 和 Medcalc20.0 软件对数据进行统计分析。采用 Shapiro-Wilk 检验分析数据的正态性。通过 Medcalc20.0 软件建立 Passing-Bablok 回归模型，绘制 Bland-Altman 图。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2　结　　果

**2.1　基本参数比较**　2 代试剂均采用化学发光免疫夹心法检验原理，其基本参数见表 1。与第 1 代试剂相比，第 2 代试剂的线性范围有所扩大，制造商提供的参考区间发生一定变化。第 2 代试剂对标本类型要求放宽，有利于降低临床采样错误率。另外，采用第 2 代试剂检测 TPOAb 时的溯源物质由企业内部参考品优化为国家标准品(150557)。

**2.2　方法学比较**　剔除离群值补足样本数量后，作散点图和相对差异图对数据进行初步评估时发现，试验方法与比较方法的差值呈混合变化，因此选择进行 Passing-Bablok 回归分析。见表 2 及图 1。Tg 的回归方程斜率为 1.024，截距为 0.385，$r^2=0.994$，±1.96$RSD$ 区间适中；TRAb 的回归方程斜率为 0.936，截距为 0.151，$r^2=0.974$，±1.96$RSD$ 区间较小。检测 Tg、TRAb 时，第 1 代试剂和第 2 代试剂相关性较高。而 TPOAb 和 TgAb 的回归分析中，斜率 95%$CI$ 分别为 0.189～0.286、0.863～0.921，均不包含 1，±1.96$RSD$ 区间过大。2 代试剂间存在比例差异和随机差异。

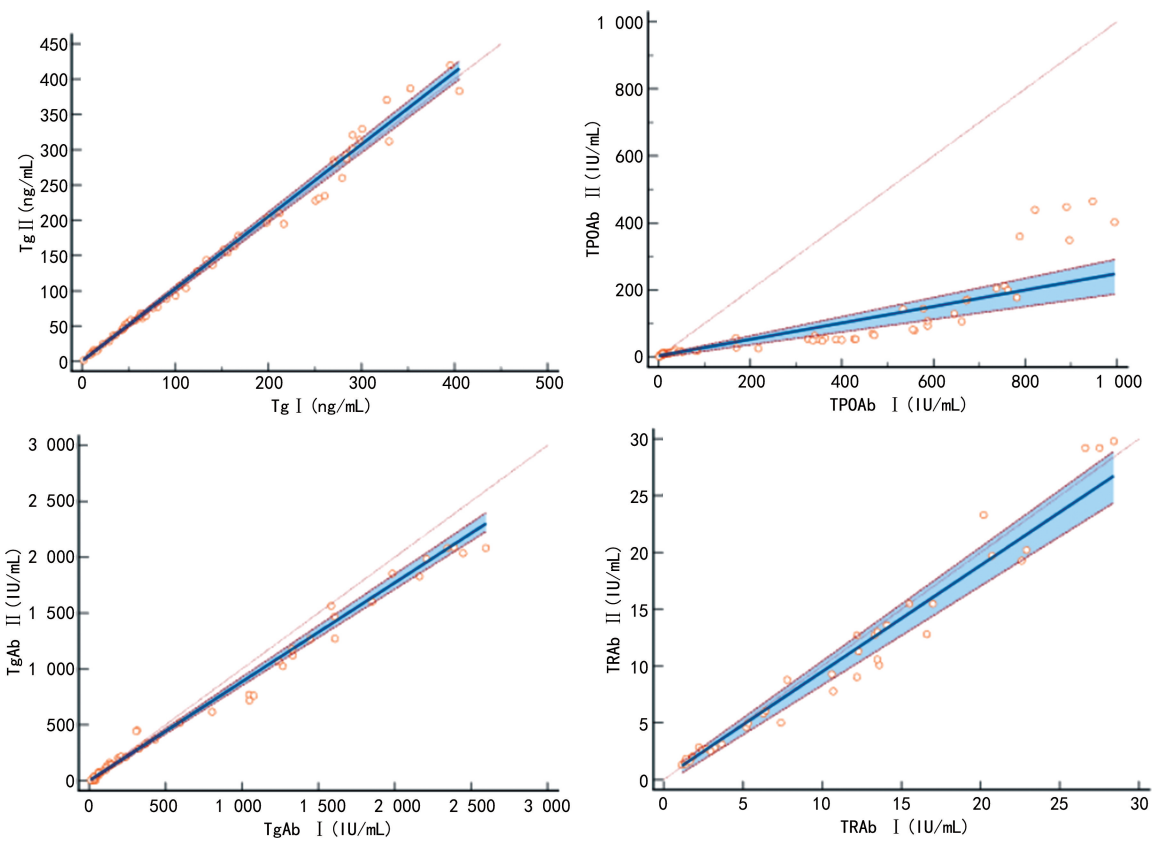


**图 1　Passing-Bablok 图**

**2.3　一致性评价**　检测 Tg 时，2 代试剂间相对偏差的均值为 1.9%(95% LoA：－11.8%～15.6%)，3.3%的点落在 95%LoA 外，95%LoA 内的最大值和最小值分别为 12.5%和－10.8%，在可接受范围内。检测 TPOAb 时，2 代试剂间相对偏差的均值为－82.4%(95% LoA：－216.8%～52.1%)，3.3%的点落在 95%LoA 外，95%LoA 内的最大值和最小值分别为 52.1%和－157.8%，不可接受。检测 TgAb 时，2 代试剂间相对偏差的均值为－27.9%(95% LoA：－125.2%～69.4%)，10%的点落在 95%LoA

外，95%LoA 内的最大值和最小值分别为 35.7%和−106.1%，不可接受。检测 TRAb 时，2 代试剂间相对偏差的均值为 −4.1%（95% LoA：−34.2%～26.0%），2.5%的点落在 95%LoA 外，95%LoA 内的最大值和最小值分别为 25.8%和−31.5%，不可接受。见图 2。

**表 1　2 代试剂基本参数**

| 试剂 | 线性范围 | 制造商参考区间 | 本实验室参考区间 | 标本类型 | 溯源 |
|---|---|---|---|---|---|
| Tg Ⅰ(ng/mL) | 25～500 | 1～40 | <1 m：5～129；≥1 m～1 y：5～97；≥1 y～18 y：5～55 | 血清 | IRMM BCR-457 |
| Tg Ⅱ(ng/mL) | 0.1～500 | 3.5～77(成人) | — | 血清/血浆 | IRMM BCR-457 |
| TPOAb Ⅰ(IU/mL) | 15～1 000 | <10 | <18 y：<30 | 血清 | 企业内部参考品 |
| TPOAb Ⅱ(IU/mL) | 1～1 000 | ≤10(成人) | — | 血清/血浆 | 国家标准品(150557) |
| TgAb Ⅰ(IU/mL) | 4～2 800 | <40 | <18 y：<95 | 血清 | WHO NIBCS(65/093) |
| TgAb Ⅱ(IU/mL) | 0.1～2 800 | ≤95(成人) | — | 血清/血浆 | WHO NIBCS(65/093) |
| TRAb Ⅰ(IU/L) | 1～30 | <1.5 | <1.5 | 血清 | WHO NIBCS(08/204) |
| TRAb Ⅱ(IU/L) | 1～40 | <1.5 | — | 血清 | WHO NIBCS(08/204) |

注：—表示无此项。

**表 2　Passing-Bablok 回归方程**

| 项目 | 回归方程 | 斜率(95%*CI*) | 截距(95%*CI*) | *r*(95%*CI*) | *RSD*(±1.96*RSD*) |
|---|---|---|---|---|---|
| Tg Ⅰ *vs*. Tg Ⅱ | $Y=0.385+1.024X$ | 1.024(0.989～1.045) | 0.385(−1.051～2.248) | 0.997(0.996～0.998) | 9.121(−17.876～17.876) |
| TPOAb Ⅰ *vs*. TPOAb Ⅱ | $Y=3.591+0.245X$ | 0.245(0.189～0.286) | 3.591(−1.179～5.966) | 0.984(0.974～0.991) | 65.919(−129.201～129.201) |
| TgAb Ⅰ *vs*. TgAb Ⅱ | $Y=0.445+0.885X$ | 0.885(0.863～0.921) | 0.445(−12.367～5.993) | 0.989(0.981～0.993) | 57.267(−112.244～112.244) |
| TRAb Ⅰ *vs*. TRAb Ⅱ | $Y=0.151+0.936X$ | 0.936(0.873～1.004) | 0.151(−0.407～0.397) | 0.987(0.976～0.993) | 1.215(−2.381～2.381) |

**2.4**　偏倚评估　Passing-Bablok 回归模型中，Tg、TgAb 和 TRAb 在各医学决定水平处的预期偏倚均小于可接受水平，而 TPOAb 在各医学决定水平处的预期偏倚不可接受。见表 3。

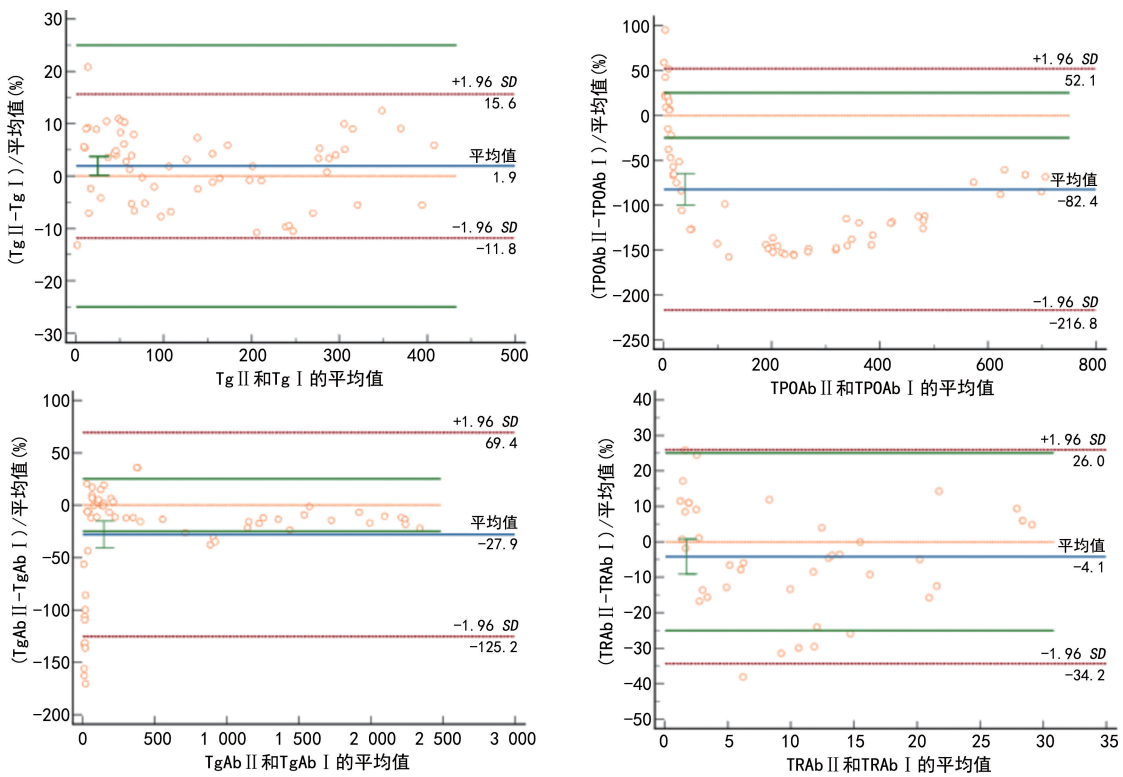


**图 2**　Bland-Altman 图

表 3　医学决定水平处的偏倚结果

| 项目 | 医学决定水平 | 预估值 | 绝对偏差 | 相对偏倚(%) | 可接受水平*(%) | 是否可接受 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tg(ng/mL) | 55.00 | 56.68 | 1.68 | 3.06 | ≤8.33 | 是 |
| | 97.0 | 99.67 | 2.67 | 2.76 | ≤8.33 | 是 |
| | 129.0 | 132.43 | 3.43 | 2.66 | ≤8.33 | 是 |
| TPOAb(IU/mL) | 10.00 | 6.06 | −3.95 | −39.54 | ≤18.00 | 否 |
| | 30.0 | 10.95 | −19.05 | −63.48 | ≤18.00 | 否 |
| TgAb(IU/mL) | 40.00 | 35.86 | −4.14 | −10.35 | ≤12.00 | 是 |
| | 95.0 | 84.56 | −10.44 | −10.99 | ≤12.00 | 是 |
| TRAb(IU/L) | 1.500 | 1.555 | 0.055 | 3.660 | ≤12.00 | 是 |

注：* 表示判断标准源于本实验室质量要求。

## 3　讨　论

建立儿童相关检测指标参考区间的工作量和成本巨大，实施难度较高，临床实验室引用参考区间比自己建立参考区间更为现实、可行。按照惯例，临床实验室应首先考虑引用国家卫生行业标准(WS/T)的参考区间，其次可考虑引用权威书刊、共识或制造商提供的参考区间。查找资料后，作者未发现适宜的可引用的儿童 Tg 和甲状腺自身抗体水平的参考区间，且试剂盒标注的参考区间仅适用于成人。因此，本实验室建立了适合我国西南地区儿童及青少年的参考区间。对于升级后的试剂盒，虽然检测的物质相同，但试剂所用抗原/抗体亲和力、特异度、检测步骤等可能发生改变，其检测结果也会有所不同[11]。在试剂换代之际，对参考区间进行评估和验证非常有必要。本研究参照 CLSI 的 EP9-A3 文件分析 2 代试剂间的一致性，进行偏倚评估，从而判断是否需要重新建立参考区间。

本研究结果显示，Tg 的回归方程为 $Y=0.385+1.024X$，$r^2=0.994$，且检测 Tg 时，第 1 代试剂和第 2 代试剂的相对偏差均值为 1.9%。提示 2 代试剂检测 Tg 时的一致性较好。由于没有公认的 Tg、TPOAb、TgAb 的医学决定水平，本研究中所用的各医学决定水平为试剂盒标注或本实验室此前建立的参考区间临界值[12]。采用第 2 代试剂检测 Tg 时，在 55、97、129 ng/mL 水平的预估偏倚分别为 3.06%、2.76%、2.66%，均在可接受范围。由此可见，采用第 2 代试剂检测 Tg 时可考虑沿用之前的参考区间。在 TgAb 的回归方程中，斜率为 0.885，95%*CI* 为 0.863～0.921，不包含 1；±1.96*RSD* 为 −112.244～112.244，区间过大。提示 2 代试剂检测 TgAb 时存在比例差异和随机差异。而且，Bland-Altman 图显示，只有 71.2%的相对偏差在±25%以内。采用第 2 代试剂检测 TgAb 时，在 95.0 IU/mL 处的预估偏倚为 −10.99%，在本实验室的可接受水平内，但该项目仍需按照 WS/T 402 文件要求对参考区间进行验证，若验证未通过，则需重新建立参考区间。采用第 2 代试剂检测 TRAb 的情况与检测 TgAb 时相似，尽管回归方程显示 2 代试剂间相关性较高，但 Bland-Altman 图上只有 85.0%的相对偏差点在±25%以内，提示采用第 2 代试剂检测 TRAb 与 TRAb 的一致性一般，需要对其参考区间进行验证。

本研究结果显示，TPOAb 的回归方程为 $Y=3.591+0.245X$，斜率 95%*CI* 为 0.189～0.286，±1.96*RSD* 为 −129.201～129.201，提示 2 代试剂检测 TPOAb 时存在比例偏倚及随机偏倚。而且，Bland-Altman 图显示只有小部分的相对偏差落在±25%以内。采用第 2 代试剂检测 TPOAb 时，在 10.0、30.0 IU/mL 处的预估偏倚分别为 −39.54%、−63.48%，远超实验室可接受水平。可见，2 代试剂检测 TPOAb 时的一致性和偏倚不太理想，需要重新建立参考区间。本研究中，采用第 2 代试剂检测 TPOAb 时的标准品的参考物质由企业内部参考品优化为国家标准品，这很可能是导致一致性和偏倚不理想的重要原因。量值溯源是实现实验室标准化和机构互认的重要前提，也是提高体外诊断试剂产品质量的重要手段[13-14]。蛋白质结构复杂、定值难度大，国内目前采用多中心联合定值的方式进行赋值[15]。目前，我国关于这一类大分子物质的溯源工作仍需不断探索。

综上所述，2 代试剂检测 Tg 时的一致性较好，结果偏倚可接受；检测 TgAb、TRAb 的一致性一般，偏倚可接受，换代后需要验证参考区间；检测 TPOAb 时的一致性和偏倚不理想，需要重新建立参考区间。

## 参考文献

[1] DI JESO B, ARVAN P. Thyroglobulin from molecular and cellular biology to clinical endocrinology[J]. Endocr Rev, 2016, 37(1): 2-36.

(下转第 312 页)