

# 化学发光免疫法测定血清甲状腺功能三项

许新\*

(天津医科大学总医院, 天津 300050)

**摘要: 目的** 建立化学发光免疫(Chemiluminescence immunoassay, CLIA)法检测血清甲状腺功能三项。**方法** 回顾性分析天津医科大学总医院2023年2月—2024年5月期间收治的甲状腺功能亢进者共121例, 甲状腺功能减退共101例, 甲状腺功能正常患者共67例的临床资料, 研究对象均使用CLIA法检查血清促甲状腺素(TSH)、游离甲状腺素(FT4)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3), 随后统计CLIA系统监测TSH、FT4、FT3的线性范围、精密度、准确度。**结果** TSH、FT4、FT3线性相关系数( $r$ ) $\geq 0.990$ , 斜率( $b$ ) $\geq 0.95$ ~1.00。TSH、FT4、FT3的批内、批间精密度分别小于 $1/4TEa$ (CLIA'88)、 $1/3TEa$ (CLIA'88)。TSH、FT4、FT3偏倚均小于 $1/2TEa$ (CLIA'88)。CLIA法检测的甲状腺功能亢进者、甲状腺功能减退、甲状腺功能正常者TSH、FT4、FT3水平均高于RAI法检测所得的TSH、FT4、FT3水平( $P < 0.05$ )。**结论** CLIA法对血清甲状腺功能三项检测的准确度、精密度良好, 为临床检测血清甲状腺功能三项提供重要依据。

**关键词:** 化学发光免疫法; 促甲状腺素; 游离甲状腺素; 游离三碘甲状腺原氨酸

## Serum thyroid function was measured by chemiluminescence immunoassay

XU Xin\*

(Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300050, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a chemiluminescence immunoassay (CLIA) for the detection of serum thyroid function. **Methods** The clinical data of 121 patients with hyperthyroidism, 101 patients with hypothyroidism and 67 patients with normal thyroid function admitted to Tianjin Medical University General Hospital were retrospectively analyzed from February 2023 to May 2024. The levels of serum thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT4) and free triiodothyronine (FT3) were examined by CLIA, and then the linear range, precision and accuracy of TSH, FT4 and FT3 monitored by CLIA system were counted. **Results** The linear correlation coefficient ( $r$ ) values of TSH, FT4 and FT3 were  $\geq 0.990$ , and slope ( $b$ ) was within 0.95-1.00. The intra-batch and inter-batch precision values of TSH, FT4 and FT3 were less than  $1/4TEa$  (CLIA'88) and  $1/3TEa$  (CLIA'88) respectively. The bias of TSH, FT4 and FT3 were less than  $1/2TEa$  (CLIA'88). The levels of TSH, FT4 and FT3 in patients with hyperthyroidism, hypothyroidism and normal thyroid function detected by CLIA were higher than those detected by RAI ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** CLIA has good accuracy and precision in the detection of three items of serum thyroid function, and provides an important basis for clinical detection of three indexes of serum thyroid function.

**KEY WORDS:** chemiluminescence immunoassay; thyroid stimulating hormone; free thyroxine; free triiodothyronine

## 0 引言

甲状腺疾病主要包括甲状腺功能亢进、甲状腺功能减退、甲状腺肿瘤等疾病, 且近年来甲状腺疾病患病率据统计呈逐年增长趋势<sup>[1]</sup>。其中甲状腺功能亢进是由于甲状腺病变导致的甲状腺毒症, 甲状腺功能减退是由于甲状腺素的合成、分泌减少或组织

利用障碍而导致的一组全身性低代谢综合征, 甲状腺功能异常是以上疾病发病的重要原因, 甲状腺属于机体内分泌系统的关键器官, 其通过合成和释放甲状腺激素, 以调控人体正常生长发育和代谢<sup>[2]</sup>。其中促甲状腺素(TSH)是由垂体前叶分泌, 其能够促进甲状腺发育, 从而调控甲状腺激素的合成和分泌; 游离甲状腺素(FT4)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)均由甲状腺滤泡上皮细

\* 通信作者: 许新, 硕士, 初级技师, 研究方向为临床检验诊断学。E-mail: 18812678708@163.com

\* Corresponding author: XU Xin, Master, Junior Technician, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300050, China. E-mail: 18812678708@163.com

胞合成和分泌,两者进入靶细胞从而发挥生物学活性作用,当患者出现甲状腺功能异常时,TSH、FT4、FT3水平会呈现异常变化,TSH、FT4、FT3水平已经成为甲状腺功能检查的三项重要指标<sup>[3-4]</sup>。因此对TSH、FT4、FT3水平进行准确、有效检测,有利于临床协助医生诊治甲状腺疾病。近年来,随着医学检验技术的发展,其中化学发光免疫(CLIA)法由于无放射性污染、仪器材料成本低等优点被广泛应用于血清成分检测<sup>[5]</sup>。但CLIA法对于TSH、FT4、FT3水平检测的精密度、准确度尚未完全明确,本研究分析CLIA法检测血清TSH、FT4、FT3水平,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验样本

回顾性分析天津医科大学总医院2023年2月—2024年5月期间收治的甲状腺功能亢进者共121例,甲状腺功能减退共101例,甲状腺功能正常患者共67例的临床资料。甲亢患者男71例,女50例;年龄在30~70岁,平均年龄(43.18±7.46)岁,体质量指数18.1~24.8 kg/m<sup>2</sup>;平均体质量指数(22.36±1.54) kg/m<sup>2</sup>;甲减患者男59例,女42例;年龄在30~70岁,平均年龄(42.87±5.93)岁,体质量指数18.1~24.8 kg/m<sup>2</sup>;平均体质量指数(22.88±1.72) kg/m<sup>2</sup>;甲状腺功能正常患者男41例,女26例;年龄在30~70岁,平均年龄(43.51±7.04)岁,体质量指数18.1~24.8 kg/m<sup>2</sup>;平均体质量指数(22.54±1.39) kg/m<sup>2</sup>。

纳入标准:(1)甲亢、甲减符合相关指南的诊断标准<sup>[6-7]</sup>;(2)研究对象检查资料完整;(3)血清样本>3 mL;(4)研究对象签署知情同意书。排除标准:(1)甲亢、甲减患者在确诊前3个月内未进行过任何治疗;(2)采血样本出现乳糜、溶血、脂血等现象;(3)高于或低于CLIA法的检测范围。

### 1.2 仪器与试剂

i2000sr型号全自动化学发光免疫分析仪来自美国雅培公司,促甲状腺素(TSH)化学发光免疫法试剂盒来自厦门市波生生物技术有限公司(闽械注准20172400151),游离甲状腺素(FT4)化学发光免疫法试剂盒来自天津新湾生物科技有限公司(津械注准20172400128),游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)化学发光免疫法试剂盒来自苏州长光华医生物医学工程有限公司(苏械注准20172401018)。6080型号 $\gamma$ 放射免疫计数器来自西安中核核仪器股份有限公司(陕械注准20172220010)。台式高速离心机来自上海力申科学仪器有限公司(沪食药监械(准)字2014第1410382号)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 样品采集与前处理

空腹状态下护理人员抽取研究对象空腹状态下肘静脉血

3~5 mL,随后置于抗凝试剂管中,离心机设置转速为15000 r/min,经离心10~15 min后,顺利离心后将血液样本放置于-20℃冰箱中保存。

#### 1.3.2 线性关系分析

参考NCCLS EP6-A3文件<sup>[8]</sup>,将近线性高值患者和近线性低值患者分别作为高值样本、低值样本,随后按照5 L(L为低值)、4 L+1 H(H为高值)、3 L+2 H、2 L+3 H、1 L+4 H、5 L的比例对血清样本进行稀释并混匀,调制为6个不同比例水平的血清标本,每个标本测试3次并取平均值。最后对实测平均值和理论水平进行回归拟合,计算线性回归计算。合格标准为线性回归系数 $r \geq 0.990$ ,斜率( $b$ )为0.95~1.05。

#### 1.3.3 精密度分析

参考CLSI EP5-A3文件<sup>[9]</sup>,每天各复融3批低值和高值的质控血清后,使用化学免疫分析法进行检测,每批测定时间 $\geq 1$  h,连续测定5 d。计算并统计批内、批间精密度。批内精密度质量合格标准:1/4TEa (CLIA'88),批间精密度质量合格标准:1/3TEa (CLIA'88)。

#### 1.3.4 准确度分析

参考CLSI EP15-A3文件<sup>[10]</sup>,将全自动化学发光免疫分析仪生产公司提供的两种浓度梯度准确度验证标本作为检测标本,随后连续5天进行检测,2次/天,取检测平均值。最后对检测结果均值与已知定值物质的偏倚进行计算并统计,准确度标本的相对偏倚=(检测结果均值-靶值)/靶值 $\times 100\%$ 。合格标准为相对偏倚小于CLIA'88认可的1/2TEa,即 $< 12.5\%$ 。

#### 1.3.5 样品检测

使用化学发光免疫法、放射免疫测定法(RAI)对甲状腺功能亢进患者,甲状腺功能减退患者,甲状腺功能正常者血清TSH、FT4、FT3水平进行检测并进行比较。

#### 1.3.6 统计学处理

采用SPSS22.0处理数据。正态计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,正态计量资料以表示,经方差齐性检验后,行 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 显示有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 线性关系分析

经CLIA法检查TSH、FT4、FT3后,发现TSH、FT4、FT3为线性相关, $r \geq 0.994$ , $b$ 在0.96~1.00内,CLIA法测定TSH、FT4、FT3在厂家声明的线性范围内具有良好的线性关系,检测结果真实可靠。见表1。

表1 线性验证结果  
Table 1 Linear verification results

项目	$r$	$b$	厂家声明线性范围	验证范围
TSH	0.998	0.992	0.01~100.00	0.00~99.23
FT4	0.994	0.967	0.20~8.00	0.00~8.64
FT3	0.996	0.976	1.00~30.00	0.03~38.15

### 2.2 精密度分析

TSH、FT4、FT3的批内精密度均小于1/4TEa (CLIA'88),

且TSH、FT4、FT3的批间精密度均小于1/3TEa (CLIA'88),CLIA法测定TSH、FT4、FT3的可重复性好,能够满足质量标

准的要求, 详见表 2。

### 2.3 准确度分析

TSH、FT4、FT3 偏倚均小于 1/2TEa (CLIA'88), CLIA 法对于 TSH、FT4、FT3 的检测准确度较高, 能够满足临床检测需求, 见表 3。

### 2.4 样品检测

无论是甲状腺功能亢进者、甲状腺功能减退患者, 还是甲状腺功能正常者, 相较于 RAI 法检测所得的 TSH、FT4、FT3 水平, CLIA 法检测的 TSH、FT4、FT3 水平均较高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), CLIA 法对于 TSH、FT4、FT3 的检测准确度较高。见表 4。

表 2 精密度验证结果  
Table 2 Precision verification results

项目	批内精密度				批间精密度			
	低值	高值	1/4TEa	厂家声明	低值	高值	1/3TEa	厂家声明
TSH	3.51	2.86	6.25	10.00	3.44	2.32	8.33	10.00
FT4	2.23	0.99	6.25	10.00	2.86	1.22	8.33	10.00
FT3	1.85	2.94	6.25	10.00	2.43	2.45	8.33	10.00

表 3 准确度验证结果  
Table 3 Accuracy verification results

项目	低值准确度			高值准确度			1/2TEa(%)	厂家声明标准(%)
	结果均值	靶值	偏倚(%)	结果均值	靶值	偏倚(%)		
TSH(mIU/dL)	0.56	0.53	5.66	43.07	42.11	2.28	12.50	10.00
FT4(ng/mL)	2.05	2.00	2.50	3.64	3.60	1.11	12.50	10.00
FT3(pg/mL)	1.79	1.65	8.48	16.77	15.53	7.98	12.50	10.00

表 4 样品检测结果  
Table 4 Sample detection results

组别	例数	项目	检测值		<i>t</i>	<i>P</i>
			CLIA	RAI		
甲状腺功能亢进	121	TSH(mIU/L)	0.09±0.02	0.06±0.02	11.667	<0.001
		FT4(pg/mL)	69.85±9.07	63.18±8.29	5.971	<0.001
		FT3(pg/mL)	16.56±3.29	14.30±4.11	4.722	<0.001
甲状腺功能减退	101	TSH(mIU/L)	83.24±15.41	74.15±17.43	3.927	<0.001
		FT4(pg/mL)	3.69±1.13	3.01±1.35	3.882	<0.001
		FT3(pg/mL)	2.56±0.74	2.03±0.51	5.927	<0.001
甲状腺功能正常	67	TSH(mIU/L)	4.92±1.48	4.16±1.32	3.137	0.002
		FT4(pg/mL)	19.68±2.07	17.10±2.29	6.841	<0.001
		FT3(pg/mL)	3.56±1.05	2.60±0.83	5.871	<0.001

## 3 讨论与结论

既往, 临床多采用放射免疫测定法 (RAI) 对 TSH、FT4、FT3 水平进行检测, 虽然该检测方式准确度、精密度较好, 但其在操作过程会对操作员产生潜在有害影响, 同时其在检测过程中容易受到半衰期较短的影响, 从而影响检测过程以及准确度, 而 CLIA 法无需使用放射性同位素, 灵敏度高, 检测限低、线性范围宽、检测速度快、结果稳定, 适用于多种血清样本成分检测, 成为协助临床诊断疾病的重要方式之一<sup>[11]</sup>。

线性范围是指对厂家声明接近线性范围的最低值、最高值

范围内不同水平的标本进行检测, 从而评估线性关系, 最终评估在该水平范围内的测定结果是否真实可靠<sup>[12]</sup>。本研究线性关系分析结果与吴秀镗<sup>[13]</sup>等人的研究结果相似, 提示 CLIA 法测定 TSH、FT4、FT3 水平在厂家声明的线性范围内具有良好的线性关系, 检测结果真实可靠。据分析可能因为 CLIA 法测定 TSH、FT4、FT3 的标记物为固定量, 故可用于不同样本类型、激素水平的检测。精密度指的是在同一条件下进行反复检测同一标本后结果之间的一致性程度, 本研究通过评估 CLIA 法的精密度, 可评估该方式的随机误差, 且良好的精密度是全自动化学发光免疫分析仪进行其他性能验证的基础<sup>[14]</sup>。本研究显示,

TSH、FT4、FT3 的批内精密度高低值在 6.25 内, 批间精密度高低值在 8.33 内, 说明 CLIA 法测定 TSH、FT4、FT3 水平的可重复性好, 能够满足质量标准的要求。也有研究指出, CLIA 法测定 TSH、FT4、FT3 过程中采用新型标记物, 能够检测到极低浓度的物质, 同时其检测仪器稳定性能良好, 能够多次检测同一样本, 可重复性好<sup>[15]</sup>。准确度指的是理论值与实际测定值之间的一致性, 能够反映全自动化学发光免疫分析仪器的误差, 常用偏倚表示, 偏倚与检测方法的准确度呈负相关, 测定方式的偏倚越小, 该方式准确度越高<sup>[16]</sup>。本研究中, TSH、FT4、FT3 检测值均在厂家声明标准范围内, 且 TSH、FT4、FT3 偏倚均小于 1/2TEa (CLIA'88); CLIA 法检测的甲状腺功能亢进者、甲状腺功能减退、甲状腺功能正常者 TSH、FT4、FT3 水平均高于 RAI 法检测所得的 TSH、FT4、FT3 水平, 说明 CLIA 法对于 TSH、FT4、FT3 水平的检测准确度较高, 这是由于标记特定的抗原或者抗体, 当抗原与抗体会进行反应, 产生复合物后, CLIA 法能够通过检测通过测量复合物产生的光子来判断样本中是否存在特定的抗原, 从而准确检测患者体内的 TSH、FT4、FT3 水平<sup>[17]</sup>。娜仁高娃<sup>[18]</sup>等人的研究也明确指出 CLIA 法能够准确检测血清 TSH、FT4、FT3 水平且精密度良好, 与本研究结论基本一致。

CLIA 法能够准确检测血清 TSH、FT4、FT3 水平且精密度良好, 为临床检测血清 TSH、FT4、FT3 水平提供新的方式和理论依据, 具有推广价值。

## 参考文献

- [1] 郝志华, 王绵, 郝慧瑶, 等. 河北省城市、农村地区成人甲状腺疾病流行病学调查分析[J]. 中华地方病学杂志, 2023, 42(04): 292-295.
- [2] 隋鑫, 解朋, 黄建敏, 等. 磁微粒化学发光法与电化学发光法检测促甲状腺激素受体抗体的一致性评价[J]. 中国医药导报, 2022, 19(06): 25-28.
- [3] 张超, 李娟娟, 姚廷敬. 甲状腺球蛋白联合甲状腺球蛋白抗体及促甲状腺素对分化型甲状腺癌病人预后的预测价值[J]. 蚌埠医学院学报, 2023, 48(09): 1219-1222.
- [4] 王丽萍. 两种全自动化学发光免疫分析仪检测甲状腺功能 5 项指标的一致性评价[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(15): 2235-2237.
- [5] 游小兰. 化学发光免疫分析法与酶联免疫吸附试验应用于乙型肝炎病毒血清学检验中的有效性评价[J]. 山西医药杂志, 2022, 51(20): 2368-2371.
- [6] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 甲状腺功能亢进症基层诊疗指南(2019 年)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(12): 1118-1128.
- [7] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 甲状腺功能减退症基层诊疗指南(2019 年)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(11): 1022-1028.
- [8] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedure: A statistical approach; approved guideline: EP6-A [S]. Wayne, PA, USA, NCCLS, 2003: 2.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; approved guideline-3rd edition: EP05-A3 [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014: 2.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline-Third Edition: EP15-A3 [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014: 4.
- [11] 宋晏, 张洁, 陈正福. 化学发光免疫法测定人体甲状腺激素的性能验证及其临床应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(04): 676-679.
- [12] 王丽娜, 赵伟, 张婧莹, 等. CL6000i 全自动化学发光免疫分析仪检测甲状腺激素的性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(20): 2458-2464.
- [13] 吴秀镯, 齐天琪, 曾洁, 等. 基于我国 WS/T 促甲状腺激素受体抗体检测方法的性能验证[J]. 标记免疫分析与临床, 2024, 31(01): 162-166, 184.
- [14] 吴卫星, 吴宗勇, 张丽, 等. 甲状腺功能检测的性能验证分析[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(15): 2135-2139.
- [15] 王丽. 化学发光免疫测定在甲状腺功能生化检验中的应用研究[J]. 生命科学仪器, 2023, 21(z1): 342.
- [16] 沈紫薇, 冯雪凤, 林夏雯, 等. 全自动化学发光免疫分析仪检测甲状腺激素三项的性能验证[J]. 标记免疫分析与临床, 2024, 31(08): 1540-1545.
- [17] 陈华, 陆炜, 刘锦燕, 等. LiCA500 全自动化学发光仪检测甲状腺项目的性能验证[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(06): 1041-1046.
- [18] 娜仁高娃, 曲波. 西门子 Altellica IM1600 全自动化学发光分析仪检测甲状腺激素 5 项的性能及检出限验证[J]. 标记免疫分析与临床, 2024, 31(03): 564-568.

## 作者简介

许新, 硕士, 初级技师, 研究方向为临床检验诊断学。