

某全自动干式生化分析仪的性能验证

陈金花, 杨国溜, 黄 毅 (福建省立医院检验科, 福州 350001)

【摘要】 目的 按 ISO15189 要求对强生 Vitros Fusion 5.1 全自动干式生化分析仪的性能进行验证。**方法** 对该仪器血淀粉酶(AMY)检测的精密度、正确度、分析测量范围、临床可报告范围、参考区间进行验证试验。**结果** 批内不精密度高低浓度分别为 0.88% 和 2.26%, 均小于 1/4 CLIA'88(7.5%); 批间不精密度高低浓度分别为 1.18% 和 2.30%, 均小于 1/3 CLIA'88(10.0%)。相对偏倚为 2.52%, 小于 1/2 CLIA'88(15.0%)。线性范围为 44~1 108 U/L, 参考区间为 30~110 U/L, 临床可报告范围为 44~17 728 U/L。**结论** 强生 Vitros Fusion 5.1 全自动干式生化分析仪的 AMY 项目可用于临床检测。

【关键词】 全自动干式生化分析仪; 淀粉酶; 性能验证

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.026 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)23-2964-02

The performance validation of Johnson Vitros Fusion 5.1 full automatic dry type biochemistry analyzer CHEN Jin-hua, YANG Guo-liu, HUANG Yi (The department of Clinical Laboratory, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China)

【Abstract】 Objective To get the performance validation on Johnson Vitros Fusion 5.1 full automatic dry type biochemistry analyzer in accordance with the requirements of ISO15189. **Methods** The experiments were carried out for the precision, accuracy, analytical measurement range, clinical reportable range and reference interval of serum amylase. **Results** The high and low value of repeatability coefficient of variation were 0.88% and 2.26%, less than 1/4 CLIA'88 (7.5%); the the high and low value of intermediate precision CV are 1.18% and 2.30%, less than 1/3 CLIA'88 (10.0%). Results bias is 2.52%, less than 1/2 CLIA'88 (15.0%). Analytical measurement range is 44 to 1 108 U/L, Reference interval is 30 to 110 U/L, Clinical reportable range is 44 to 17 728 U/L. **Conclusion** The performance validation of Johnson Vitros Fusion 5.1 full automatic dry type biochemistry analyzer can be used in clinical specimens test.

【Key words】 full automatic dry type biochemistry analyzer; amylase; performance verification

按《医学实验室和能力的要求》(ISO15189)的要求, 参加实验室认可应评估所选用方法和程序, 在用于医学检验前证实其可给出满意结果。因此在开展某一检测项目前, 都需要进行精密度、正确度、分析测量范围、临床可报告范围、参考区间等性能验证。按照上述规定, 本实验室对强生 Vitros Fusion 5.1 进行了 20 个项目的性能验证, 现选取对血淀粉酶(AMY)的检测情况进行报道。

1 材料与方法

1.1 样本来源 选取本院健康体检人群新鲜血标本 40 份, 男女各 20 份, 选择标准为表面健康人(经健康体检, 排除疾病、亚健康状态、不良嗜好及近期有用药史者)。

1.2 仪器与试剂 仪器为强生 Vitros Fusion 5.1 全自动干式生化分析仪; AMY 检测试剂为配套试剂, 批号为 60103782; 低浓度质控品批号为 A1565, 高浓度质控品批号为 B1567。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证方案 按照 CLSI EP15-A 标准^[1]: 选取低浓度质控品(103 U/L)和高浓度质控品(314 U/L)为价样品, 5 d 连续实验, 每天做 1 批, 每批每个水平予以 3 次重复测定。依据 CLSI EP15-A 文件, 用相应的软件进行结果分析。

批内不精密度判断限: 1/4 CLIA'88 允许总误差(或生物学变异与分析质量要求允许不精密度); 批间不精密度判断限: 1/3 CLIA'88 允许总误差(或 1/2 生物学变异与分析质量要求

允许不精密度)。

1.3.2 正确度验证方案 对于有参与卫生部临床检验中心和(或)福建省临床检验中心和(或)其他权威机构组织室间质评活动的检测系统, 目前较为常用的正确度验证方法为统计实验室近几年参加室间质评活动的成绩(至少 20 个数据), 比较回报靶值和实验室检测结果, 计算偏差及偏倚, 取绝对值后统计平均值。平均偏倚应小于 1/2 CLIA'88 允许总误差(或生物学变异与分析质量要求允许总误差)。

1.3.3 分析测量范围验证方案 按平均斜率法, 选择低浓度(L)和高浓度(H)样本各 1 份, 浓度最好达到给定的上下限, 并按照 5 L、4 L+1 H、3 L+2 H、2 L+3 H、1 L+4 H、5 H 的比例混合成 6 个混合标本, 每个浓度的样本重复检测 2 次。以预期值为 X, 测定均值为 Y, 计算回归方程: $Y = bX + a$, 若相关系数(r^2) ≥ 0.975 , b 在 0.97~1.03 范围内, a 与 0 差异无统计学意义, 结果为可接受。若 $b < 0.95$, 提示可能 b 和 1 之间差异有统计学意义^[2]。

1.3.4 参考区间评审方案 参考美国临床实验室标准化研究所 CLSI C28-A2 文件^[3], $R = \text{测定结果在参考范围内的例数} / \text{总测定例数}$, $R \geq 95\%$ 即合格。选择 40 份体检合格的健康人血液标本, 在检测系统上进行测定, 对结果进行统计并与仪器说明书提供的参考区间进行比较。若 40 份标本的检测结果均在仪器说明书提供的参考区间内或仅有小于或等于 5% 的值

超出,则验证通过,否则应进行参考区间的确立实验。

1.3.5 临床可报告范围验证试验 临床可报告范围为患者标本经稀释、浓缩或者其他处理后,向临床所能报告的结果范围。进行稀释回收试验,确定标本稀释后可靠检测浓度下限^[4]。选择 AMY 浓度在线性范围内的高值标本 1 份,分别对其进行 2、4、8、16 倍稀释,连续测定 2 次,用平均值与预期值比较,计算

回收率,回收率在 90%~110%结果可以接受。确定其最大稀释度,以确定临床可报告范围^[5]。

2 结 果

2.1 精密度验证结果 见表 1。

2.2 正确度验证结果 见表 2。

表 1 质控品批内及批间不精密度

样本	平均值(U/L)	批内不精密度			批间不精密度		
		判断标准 CV(%) (<1/4CLIA'88)	标准偏差(SD)	CV(%)	判断标准 CV(%) (<1/4CLIA'88)	标准偏差(SD)	CV(%)
A1565	100.64	7.5	2.274	2.26	10.0	2.313	2.30
B1567	316.00	7.5	2.777	0.88	10.0	3.743	1.18

表 2 正确度验证结果

标本编号	偏倚(%)	标本编号	偏倚(%)	标本编号	偏倚(%)	标本编号	偏倚(%)
201121	0.74	201131	4.80	201211	0.00	201221	0.47
201122	-0.57	201132	4.59	201212	1.70	201222	11.11
201123	1.03	201133	4.90	201213	3.03	201223	1.56
201124	1.57	201134	3.28	201214	2.87	201224	0.6
201125	1.64	201135	4.02	211215	-0.37	201225	1.57

注:CV为变异系数。

2.3 分析测量范围验证结果 分析测量范围验证结果见表 3。根据结果计算出回归方程为 $Y=1.028\ 8X-42.903$, $r^2=0.980\ 1$,截距经 t 检验得出, $t=0.720\ 1$, $t_{0.05}=2.228\ 0$, $t<t_{0.05}$,表明截距与 0 差异无统计学意义($P>0.05$)。验证结果表明 AMY 在 44~1 108 U/L(为平均斜率法中的预期值)范围内具有良好线性关系(厂家线性范围 30~1 200 U/L)。实验实测值与预期值呈线性关系(见图 1)。

表 3 分析测量范围验证结果(U/L)

次数	5L	4L+1H	3L+2H	2L+3H	1L+4H	5H
第 1 次	42.2	259.9	406.0	627.8	917.1	1 068.8
第 2 次	46.0	254.6	425.8	639.3	946.0	1 040.6

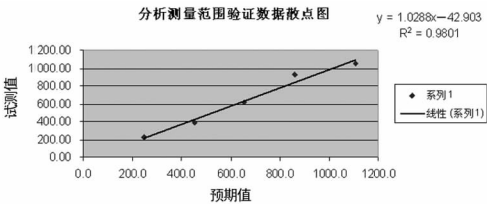


图 1 血淀粉酶(AMY)线性范围

2.4 参考区间试验结果 本试验测定 40 份健康人群血标本的结果均在厂家提供的生物参考区间范围内(30~110 U/L),即可以直接引用厂家提供的参考区间作为这些检测指标的参考区间。

2.5 临床可报告范围 本项目最大稀释度为 1:16,以线性最高浓度 1 108 U/L 计算,本项目可报告的最高浓度为 17 728 U/L。见表 4。

表 4 回收率试验结果

次数	稀释倍数				
	原倍	2 倍	4 倍	8 倍	16 倍
第 1 次)	1 092.2	542.6	253.8	143.8	64.9
第 2 次	1 040.6	527.3	261.6	144.4	65.3
平均值	1 066.4	533.2	257.7	144.1	65.1
回收率(%)	—	100.3	96.7	108.1	97.7

注:—表示无数据。

3 讨 论

在开展某一项目时,均需进行性能验证,使检测更具可靠性。该 AMY 项目的批内不精密度分别为 2.26% 和 0.88%,均小于 1/4CLIA'88 允许总误差;批间不精密度分别为 2.30% 和 1.18%,均小于 1/3 CLIA'88 允许总误差。验证正确度时可见平均偏倚明显小于 1/2CLIA'88 允许总误差。说明该仪器的 AMY 精密度及正确度均验证通过,可用于临床检验。

分析测量范围是验证高、低检测值之间是否呈线性关系。验证试验所得到的结果在坐标图上呈现良好的线性趋势,得直线回归 $Y=bX+a$, $a=42.903$, $b=1.028\ 8$, $r^2=0.980\ 1$ 则可判断该项目分析测量范围在 44~1 108 U/L 为线性,验证了厂家提供的浓度在 30~1 200 U/L 的线性范围。经稀释度验证试验,发现其最大稀释度为 1:16 时回收率为 97.7%,符合 90%~110%内的标准,因此可以确立临床可报告范围为 44~17 728 U/L,该范围经临床评审,认为可以满足 AMY 的临床诊断及治疗的检测。

参考区间的验证结果得出“可以直接引用厂家提供的参考区间作为该项目的参考区间”的结论,但由于(下转第 2967 页)

续表 1 各组相关指标水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Tch(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL(mmol/L)	LDL(mmol/L)	APO-E(mg/L)	Hcy(μ mol/L)	CysC(mg/L)
C	118	4.6 $\pm$ 0.9	3.7 $\pm$ 2.5 ^a	0.5 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 3.0 ^a	200.0 $\pm$ 180.0	19.0 $\pm$ 10.0 ^a	3.8 $\pm$ 1.5 ^a
D	83	4.4 $\pm$ 0.7	3.5 $\pm$ 2.0 ^b	0.5 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 3.0 ^b	200.0 $\pm$ 180.0	22.0 $\pm$ 11.0 ^b	3.0 $\pm$ 1.5 ^b
E	96	4.2 $\pm$ 0.5	3.0 $\pm$ 2.0 ^a	0.5 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 3.21 ^a	250.0 $\pm$ 180.0	25.0 $\pm$ 13.0 ^a	4.2 $\pm$ 1.6 ^a

注:与健康对照组相比,^a $P<0.01$,^b $0.01<P<0.05$ 。

2.2 各项指标阳性例数 结果显示病变各组 TG、LDL、APOE、Hcy、CysC 阳性率比较,差异有统计学意义 ($P<0.01$),其中 DM 病变 C 与 E 组 TG、LDL、Hcy、CysC 阳性率与健康对照组比较,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。见表 2。

表 2 各组相关指标的阳性例数 (*n*)

组别	<i>n</i>	Tch	TG	HDL	LDL	APO-E	Hcy	CysC
A	80	26	35	8	28	10	4	9
B	78	29	48 ^b	11	50 ^b	11	36 ^b	41 ^b
C	118	45	80 ^a	26	86 ^a	33 ^b	63 ^a	90 ^a
D	83	33	68 ^{ab}	13	65 ^b	13	41 ^b	48 ^b
E	96	40	79 ^a	22	78 ^a	32 ^b	56 ^a	83 ^a

注:与健康对照组相比,^a $P<0.01$,^b $0.01<P<0.05$ 。

2.3 多元回归分析结果 采用 Logistic 多元回归分析方法对影响 DM 患者合并血管病变的危险因素进行分析。以血管病变为因变量,以 Tch、TG、HDL、LDL、APO-E、Hcy、CysC 测定值作为自变量,结果显示影响 DM 患者大血管病变发生的危险因素包括 TG、LDL、Hcy、CysC ($P<0.05$)。

3 讨 论

DM 合并血管病变的病理基础是 DM 代谢引发的炎症导致动脉粥样硬化。DM 主要引起脂类代谢紊乱,刺激和促进细胞外基质增生。脂质增多沉积于血管内膜,脂质影响凝血因子活性(血小板黏附活性增加),促进血液凝固,使血流减少,血管内缺氧,代谢障碍,蛋白、脂质等微粒通透性增加;Hcy 是公认参加炎症反应的重要因子^[2],与 CysC 平衡存在。Hcy 直接或间接损害血管内皮细胞功能,致单核细胞黏附和迁移内膜下吞噬过氧化脂质,形成动脉粥样化特征泡沫细胞。文献[3-4]报道 Hcy 可激活炎性细胞,诱导血管内皮细胞、单核细胞表达趋化因子等。CysC 为半胱氨酸蛋白酶抑制剂,参与半胱氨酸蛋

白酶活性调控,维持细胞外质产生和降解的动态平衡。LDL 与血管内皮下基质结合发生氧化修饰及被巨噬细胞吞噬,引起泡沫细胞形成,脂质沉积。APO-E 是 LDL 受体的配体,也是乳糜微粒(CM)残粒受体的配体,Apo-E 主要存在于 CM、LDL 中,APO-E 与 TG 含量呈正相关,个体 APO-E 水平与动脉粥样硬化发生发展密切相关^[5],LDL、CysC、Hcy 与 DM 合并血管病变风险相关。患者年龄、性别、家族等个体差异有待进一步研究。

参考文献

[1] 章成国,邵燕,胡学强,等. 血浆同型半胱氨酸水平及其代谢酶基因多态性与脑梗死的关系[J]. 中华神经科杂志, 2003,36(5):359-361.

[2] 张高明,李志沐,许森林,等. 高血压病及其血管病变患者血浆同型半胱氨酸检测的临床价值[J]. 临床和实验医学杂志,2008,7(10):56.

[3] 孟存良,齐晓勇,赵勇军,等. 同型半胱氨酸血症与冠心病患者冠脉病变稳定性及病变程度关系研究[J]. 河北医科大学学报,2006,26(3):170-172.

[4] 王莹,张朝东. 同型半胱氨酸与糖尿病合并脑血管病[J]. 神经疾病与精神卫生,2005,5(3):229-230.

[5] Pezzini A, Del Zotto E, Archetti S, et al. Plasma homocysteine concentration, C667T MTHFR genotype, and 844 ins 68bp CBS genotype in young adults with spontaneous cervical artery dissection and athero thrombotic stroke [J]. Stroke, 2002,33(3):664-669.

(收稿日期:2012-05-07)

(上接第 2965 页)

与湿生化的参考区间有很大的不同,必须与临床进行说明并定期进行评审。

本次试验表明强生 Vitros Fusion 5.1 全自动干式生化分析仪 AMY 项目的精密度、正确度、分析测量范围的验证结果均能达到质量目标要求,可用于临床检测。

参考文献

[1] NCCLS. EP15-A User demonstration of performance for precision and accuracy; approved guideline [S]. Eayne, PA:NCCLS,2001.

[2] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:96-108.

[3] Clinical Laboratory Standards Institute. C28-A2, How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory[S]. 2000:1-31.

[4] 李磊,王泓,于凡,等. 强生 V-350 全自动干式生化分析仪检测性能验证[J]. 现代预防医学,2009,36(3):529-530.

[5] 杨有业,张秀明,王前. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:192-194.

(收稿日期:2012-08-29)