

全自动生化分析仪检测尿 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶性能验证

高 宁, 许 楠, 周 挺, 张 妮, 何 谦[△] (西安交通大学第二附属医院检验科 710004)

【摘要】 目的 对奥林巴斯 AU2700 全自动生化分析仪检测尿 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)进行性能验证。**方法** 参照 CLSI EP5-A2、EP6-A、C28-A2 文件和相关文献要求,对奥林巴斯 AU2700 全自动生化分析仪检测 NAG 进行精密度、功能灵敏度、线性范围、临床可报告范围和参考区间的验证试验。**结果** NAG 的高、低浓度标本总变异系数分别为 6.05%和 9.50%;功能灵敏度为 0.72 U/L;线性范围为 1.5~196.0 U/L;临床可报告范围为 0.72~1 960.00 U/L;参考区间为 0.3~12.0 U/L。**结论** 奥林巴斯 AU2700 全自动生化分析仪检测 NAG 的各项分析性能与厂家的声明基本一致,可用于临床检测。

【关键词】 生化分析仪; 精密度; 功能灵敏度; 线性范围; 临床可报告范围; 参考区间

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.23.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)23-3492-02

Performance verification of NAG detected by automatic biochemical analyzer GAO Ning, XU Nan, ZHOU Ting, ZHANG Ni, HE Qian[△] (Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710004, China)

【Abstract】 Objective To verify the analytical performance of NAG detected by Olympus AU2700 automatic biochemical analyzer. **Methods** The precision, functional sensitivity, linearity, clinical reportable range, reference interval were validated, according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) documents (EP5-A2, EP6-A and C28-A2). **Results** The total coefficients of variation of high and low NAG concentration samples were 6.05% and 9.50% respectively, functional sensitivity was 0.72 U/L, linearity was 1.5—196.0 U/L, clinical reportable range was 0.72—1 960.00 U/L, and reference interval was 0.3—12.0 U/L. **Conclusion** The analytical performance of NAG detected by Olympus AU2700 automatic biochemical analyzer is consistent with the statement offered by manufacturer, it is usable for clinical testing.

【Key words】 biochemical analyzer; precision; functional sensitivity; linear range; clinical reportable range; reference interval

尿 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)是一种溶酶体酶,相对分子质量为 $(130\sim 140)\times 10^3$,在肾近曲小管上皮细胞内浓度最高,是反映肾小管早期损害的一项很灵敏、特异性较强的诊断指标。《医学实验室质量和能力认可准则》ISO15189 和美国临床实验室修正法规均要求临床实验室对引进或改变的检测系统做性能验证后方可应用于临床检测^[1-2]。本研究按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)指南中有关检测系统性能验证文件,对奥林巴斯 AU2700 全自动生化分析仪检测 NAG 的精密度、功能灵敏度、线性范围、临床可报告范围及参考区间进行验证,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院健康体检者的首次晨尿,尿液留取后及时送检,2 h 内检测。若 2 h 内不能检测必须保存于 4℃冰箱,若 6 h 内不能检测置于-20℃保存。

1.2 仪器与试剂 采用奥林巴斯 AU2700 全自动生化分析仪检测, NAG 试剂(批号 14-0516)、校准品(批号 13-1226, 14-0404)、质控品(批号 13-1226, 14-0404)均由北京九强生物技术股份有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 精密度验证根据 CLSI EP5-A2 文件^[3]

的精密度评价方案进行,两种浓度的标本每种浓度每天检测 2 批,2 批检测时间至少间隔 4 h,每批重复检测 2 次,每次测定至少做一个质控,共测定 20 d。试验前 5 d 属熟悉阶段,并进行精密度可接受性预试验,后 15 d 是主要的试验阶段,每隔 5 d 要重新检查质控数据,检验所有数据的可接受性。每种浓度获得 80 个可接受的数据,对这些数据进行统计分析,计算批内及实验室内标准差和变异系数(CV)。如果实验室内 CV 小于厂家的声明,说明实验室的数据验证了厂家声明的精密度。

1.3.2 功能灵敏度验证 收集低值浓度的混合尿液,测定浓度为 7.2 U/L。用生理盐水进行系列稀释,稀释比例为 1:2、1:5、1:10、1:15、1:20。连续 10 d 内,每天检测系列稀释标本 1 次,计算每份标本的均值($\bar{x}$)、标准差(s)和 CV,以 CV 小于 20%时所对应的浓度为该检测系统的功能灵敏度。

1.3.3 线性范围验证 根据 CLSI EP6-A 文件^[4],取高值(H)和低值(L)尿液各 1 份,按照 5H、4H+1L、3H+2L、2H+3L、1H+4L、5L 的比例配制成不同浓度的尿液 6 份,每份重复测定 3 次计算平均值。以预期值为 X,实测均值为 Y 做线性回归分析,得到线性方程 $Y=aX+b$ 。判定标准:若 a 在 0.97~1.03 范围内, $r^2>0.95$,可判断线性范围在试验已涉及浓度;若 a 不在 0.97~1.03 范围内,b 较大,舍去高值或低值组数据,另

做回归统计。直至缩小的分析范围其回归方程中 a 和 b 的判断符合要求,该范围为线性范围。

1.3.4 临床可报告范围评价 把 NAG 质控品按照 1:2、1:5、1:10、1:15、1:20 稀释,分别重复测定 3 次并计算均值,然后计算预期值与测量均值的比值,即回收率。以(100.0±10.0)%范围内为判定标准。

1.3.5 参考区间验证 参照 CLSI C28-A2 文件^[5],选择 20 名健康体检合格者为试验对象,留取首次晨尿进行 NAG 测定,如果 20 份标本的检测结果均在试剂说明书提供的参考区间内或仅有 2 个标本超标,则验证通过。否则,需要进行参考区间确立试验。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2003 进行数据整理,采用 SPSS19.0 软件包进行统计分析。

2 结 果

2.1 NAG 精密度验证 见表 1。两种浓度的实验室内总 CV 分别为 6.05%和 9.50%,均小于厂家声明的 10.00%。说明厂家声明的精密度可以接受。

表 1 NAG 的精密度验证

质控品浓度 (U/L)	批内标准 差(U/L)	批内 CV(%)	实验室标 准差(U/L)	实验室 CV(%)	厂家声明的 CV(%)	是否 接受
40.9±6.1	1.33	3.46	2.33	6.05	10.00	接受
120.0±24.0	4.40	3.60	11.60	9.50	10.00	接受

2.2 功能灵敏度验证 见表 2。低值浓度的混合尿液经系列稀释后的浓度分别为 3.60、1.44、0.72、0.48、0.36 U/L,其对应的 CV 分别为 8.92%、11.85%、17.15%、23.44%、34.32%。选择 CV 小于 20.00%时所对应的浓度为该检测系统的功能灵敏度,即 0.72 U/L。

表 2 NAG 的功能灵敏度验证

稀释倍数	预期值(U/L)	测量均值(U/L)	标准差(U/L)	CV(%)
1:2	3.60	3.58	0.32	8.92
1:5	1.44	1.43	0.17	11.85
1:10	0.72	0.61	0.10	17.15
1:15	0.48	0.47	0.11	23.44
1:20	0.36	0.37	0.13	34.32

2.3 线性范围验证 高、低值尿液按比例配制的预期浓度值为 1.50、40.40、79.30、118.20、157.10、196.00 U/L,测量均值分别为 1.37、39.67、77.73、118.53、157.07、197.60 U/L,得到的回归方程为 $Y=1.009\ 3X+1.007\ 6$, $r^2=0.999\ 9$,见图 1。按照 a 在 0.97~1.03 范围内, $r^2>0.95$ 的判断标准,此段浓度的线性范围符合要求,故本系统检测尿酶 NAG 的线性范围为 1.50~196.00 U/L。

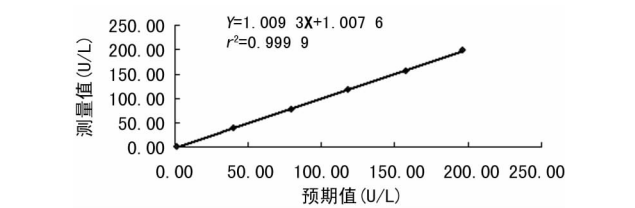


图 1 预期值与测量均值的散点图

2.4 临床可报告范围评价 浓度为 60.90 U/L 的 NAG 质控品,经系列稀释后的预期浓度值分别为 20.50、8.20、4.10、2.73、2.05 U/L,重复测定 3 次后计算均值及回收率,结果见表 3。以(100.0±10.0)%范围内为判定标准,可确定 NAG 的最大稀释度为 1:10,结合功能灵敏度 0.72 U/L,确认奥林巴斯 AU2700 检测系统检测 NAG 的可报告范围为 0.72~1 960.0 U/L。

表 3 NAG 的最大稀释度测定

稀释倍数	预期值(U/L)	测量均值(U/L)	回收率(%)
1:2	20.50	21.50	104.88
1:5	8.20	8.33	101.59
1:10	4.10	3.77	91.95
1:15	2.73	2.10	76.92
1:20	2.05	1.70	82.93

2.5 参考区间验证 20 名对象的 NAG 检测结果为 0.50~13.30 U/L,其中有 2 名对象的 NAG 测定值为 12.90 和 13.30 U/L,超过了参考区间 0.30~12.00 U/L,其余均在参考区间内,因此可判断现行的参考区间有效。

3 讨 论

精密度是检验系统重要的分析性能之一,因为临床医生和患者最关心的是检验结果的重现性,并以此作为疾病诊断和治疗的依据。CLSI EP5-A2 文件“定量测量方法的精密度性能评价”指南为临床实验室对所有仪器或自建检测系统的精密度性能验证或评价提供了方案 and 数据分析^[6]。经验证,AU2700 全自动生化分析仪检测 NAG 的精密度与厂家的声明一致,能满足临床测试的需要。

功能灵敏度的定义为以天间重复 CV 为 20.00%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^[7]。功能灵敏度是基于低浓度的基础上,用于区分检测系统从有到无的分析能力。对低值浓度的混合尿液进行系列稀释后,确定本检测系统的功能灵敏度是 0.72 U/L。

厂家在试剂说明书中提供的线性范围,是在一定测量区间,可提供测量结果与标本中测量物的量值直接呈比例的能力^[8]。线性范围验证是指患者标本不经任何预处理,在此范围内,报道结果显示标本中确实含有被测物。根据 EP6-A 文件验证 NAG 的线性范围为 1.50~196.00 U/L,略低于厂家提供的 200.00 U/L。原因可能为标本选择的浓度范围不够宽,加之临床实验室条件和厂家检测条件存在差异,导致试验得出的分析测量范围与厂家略有不同。

在临床检测中常常会遇到一些高值标本,其浓度或活性超过了仪器的分析测量范围,仪器一般会提示标本超出线性范围,这时一般按要求将标本稀释到仪器的测量范围内进行重新测定。为了保证稀释后结果的准确可靠,就需要确定检测项目的最大稀释度^[9]。本研究稀释度验证试验结果表明,NAG 的最大稀释度为 1:10,回收率为 91.95%,符合 90%~110%的可接受范围,因此可以确立临床可报告范围为 0.72~1 960.00 U/L。

生物参考区间是指某项检查结果在健康(下转第 3496 页)

床预后的重要预测因素仍然不清楚。本研究比较了健康人群、良性上皮性卵巢肿瘤患者及上皮性卵巢癌患者中血清中 LDL、HDL、ox-LDL、TG、TC 水平,结果均显示上皮性卵巢肿瘤患者 LDL 和 ox-LDL 水平显著高于健康人群,并且随着肿瘤的恶化、恶变,其水平进一步升高。本研究还发现,随着上皮性卵巢癌的分化程度加重,血清中 ox-LDL 也呈递增趋势,这可能与机体内的脂质过氧化程度加重有关,同时也有可能是由于 ox-LDL 水平的增加抑制自然杀伤细胞的增殖和功能,从而促使卵巢癌进一步分化^[13]。

本研究结果证实,ox-LDL 及 LDL 仍然是患者生存的独立预测影响因素,为上皮性卵巢癌患者预后的研究提供一定的科学基础。

参考文献

- [1] 郑莉嫔,魏素艳,蒲春文.血清中 SLP I 及 CA125 联合检测在卵巢癌诊断中的价值[J].中国优生与遗传杂志,2010,18(3):44-46.
- [2] 张红梅,徐娟,娄鉴芳,等.卵巢癌患者外周血单个核细胞 Toll 样受体 2 的表达及其诱导的 IL-10 表达[J].南京医科大学学报:自然科学版,2014,34(4):490-494.
- [3] 朱婷,余进进,徐明,等.卵巢癌血清差异表达蛋白分析[J].现代肿瘤医学,2010,18(3):532-535.
- [4] 杜丽惠.上皮性卵巢癌中基质金属蛋白酶-2 及其抑制剂的表达及意义分析[J].中国计划生育和妇产科,2014,6(2):65-69.
- [5] Wan F, Qin X, Zhang G, et al. Oxidized low-density lipoprotein is associated with advanced-stage prostate cancer[J]. Tumour Biol, 2015, 1(2): 223-230.
- [6] Zhang X, Zhao XW, Liu DB, et al. Lipid levels in serum and cancerous tissues of colorectal cancer patients[J].

World J Gastroenterol, 2014, 20(26): 8646-8652.

- [7] Kamath A, Shashidhar KN, Anantharamaiah H, et al. Risk factors, lipid profile, and histopathological study of oral cancers in Kolar district: a case-control study[J]. J Cancer Res Ther, 2014, 10(1): 171-175.
- [8] Bahl M, Ennis M, Tannock IF, et al. Serum lipids and outcome of early-stage breast cancer: results of a prospective cohort study[J]. Breast Cancer Res Treat, 2005, 94(2): 135-144.
- [9] 陆宝明,幸薇.血清低密度脂蛋白水平与上皮性卵巢癌患者预后的相关性[J].中国现代医药杂志,2014,16(5):55-57.
- [10] 朱建云.氧化型低密度脂蛋白在上皮性卵巢癌中的表达及其意义[J].现代检验医学杂志,2013,28(4):115-116.
- [11] Sui X, Liu Y, Li Q, et al. Oxidized low-density lipoprotein suppresses expression of prostaglandin E receptor subtype EP3 in human THP-1 macrophages[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e110828.
- [12] Matsuda M, Tamura R, Kanno K, et al. Impact of dyslipidemic components of metabolic syndrome, adiponectin levels, and anti-diabetes medications on malondialdehyde-modified low-density lipoprotein levels in statin-treated diabetes patients with coronary artery disease[J]. Diabetol Metab Syndr, 2013, 5(1): 77-87.
- [13] Duell PB, Dubuc G, Seidah NG, et al. Clearance of plasma proprotein convertase subtilisin/kexin 9 by low-density lipoprotein apheresis[J]. Circ Res, 2014, 115(1): e3-e4.

(收稿日期:2015-03-04 修回日期:2015-07-22)

(上接第 3493 页)

人群中的分布范围,是解释检验结果分析检验信息的一个基本尺度和依据。每个新的测试项目开展前或其分析方法学改变甚至患者人群改变时,都需进行参考区间验证试验^[10]。使用 AU2700 全自动生化分析仪检测 20 份来自健康个体的新鲜尿液 NAG,仅有 2 个结果超出参考区间 0.30~12.00 U/L,符合检测值在引用参考区间的参考个体数与总的参考个体数的比率 $r \geq 90\%$ 的可接受标准,因此可以使用现行的参考区间。

综上所述,通过奥林巴斯 AU2700 全自动生化分析仪检测 NAG 的性能验证试验,证实该检测系统的精密性、功能灵敏度、线性范围等分析性能与厂家提供的声明基本一致,符合质量目标的要求,能满足临床的要求。

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. ISO15189 医学实验室质量和能力认可准则[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2008.
- [2] 韩平治,丁进芳,兰州.尿液 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶连续监测法试剂盒性能评估[J].检验医学,2000,15(3):240-241.
- [3] CLSI. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative methods; approved guideline[S]. 2nd, ed.

Wayne, PA: CLSI, 2004.

- [4] CLSI. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach; approved guideline[S]. 2nd, ed. Wayne, PA: CLSI, 2004.
- [5] CLSI. C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline[S]. 2nd, ed. Wayne, PA: CLSI, 2000.
- [6] 李婷婷,宁芬,陆雅春.日立 7600 全自动生化分析仪检测系统性能验证[J].安徽医学,2013,34(11):1679-1682.
- [7] 张亚松,谢秋燕. HITACHI7170、7600 以及 ROCHE Cobas C501 全自动生化分析仪分析灵敏度的评价[J].国际检验医学杂志,2011,32(9):993-995.
- [8] 赵建忠.生化分析仪精密性、准确性以及线性范围性能验证[J].国际检验医学杂志,2011,32(10):1111-1112.
- [9] 陈斌鸿,罗恒,李炜焯,等.奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪检测尿素氮临床可报告范围的建立与评价[J].实验与检验医学,2011,29(2):117-120.
- [10] 冯洋,徐上放,鲁静. OLYMPUS AU640 型全自动生化分析仪性能验证[J].实验与检验医学,2014,32(2):229-232.

(收稿日期:2015-03-31 修回日期:2015-06-02)