

• 仪器使用与排障 •

双光径免疫分析仪测定免疫球蛋白性能验证与评价

范德胜, 张 波, 庄 楠
(安徽省淮北市矿工总医院检验科 235000)

摘要:目的 评价双光径分析仪测定免疫球蛋白的精密度、准确性、可报告范围和参考区间,同时观察透射比浊方法测定精密度、准确性、可报告范围和参考区间。方法 批内随机测定混合血清 20 次;批间每天测定质控血清 5 次,连续 4 d;测定本省临床检验中心质控品与其靶值比较、返测校准品与厂家赋值比较;选择接近线性范围的上限和下限混合血清进行测定。结果 IgG、IgA、IgM 批内精密度 CV 小于 4.0%,批间精密度 CV 小于 6.0%、本省临床检验中心质控品 IgG、IgA 低值偏倚大于 25.0%,IgM 大于 29.8%、返测定标液偏倚 IgG -3.5%、IgA 2.1%、IgM 8.2%;95.0%人群在参考区间可报告范围内。结论 本省室间质评靶值评价准确性偏倚较大;用校准液评价准确性偏倚较小。双光径免疫分析仪测定免疫球蛋白结果不理想。

关键词:免疫球蛋白; 双光径分析仪; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.19.040 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)19-2252-02

Immage800 特定蛋白分析仪是 Beckman 公司近年来推出的一款双光径免疫浊度分析仪。该仪器采用两套光路系统,两种波长、两种光源、两种技术(透射法+散射法)、4 种方法。速率散射比浊法,主要用于蛋白的检测。

免疫球蛋白检测目前实验室常用免疫透射比浊法和散射比浊法进行测定。透射比浊是由 Schulze 等提出,散射比浊是由 Ritchle 提出,基于方法学原理各有优缺点^[1]。前一种方法常在全自动生化分析仪上进行检测,需自建检测系统,后一种方法需特殊仪器 Beckman Coutter 特定蛋白分析仪等。本组参照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)文件及相关文献并结合室间质评,探讨双光径免疫分析仪 Immage800 检测免疫球蛋白的方法学性能验证方案和评价方法,以便考虑是否使用该仪器测定免疫球蛋白。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院健康体检人群,血清无黄疸,溶血和高、低免疫球蛋白标本来自本院住院患者。

1.2 仪器与试剂 采用 Immage800 特定蛋白分析仪及配套检测试剂 IgA(批号:M910329)、IgG(批号:M909279)、IgM(批号:907312)、校准品(批号:M811325)、RANDOX 高低值质控品(水平 3 批号:603UN,水平 2 批号:624UN)。日立 7180 全自动生化分析仪,申能免疫球蛋白原装进口试剂 IgG(批号:60059270)、IgA(批号:60058963)、IgM(批号:6008584)、校准品(批号:60058957)。

1.2 方法

1.2.1 精密度评价 (1)日内精密度实验:将混合血清随机插入患者标本中检测,同一批次连续测定 20 次,收集数据,计算均值、标准差、变异系数(CV),以 1/4 允许总误差(TEa)为可接受限。(2)日间精密度实验:每天检测 5 次 RANDOX 质控品,累计 20 次检测结果,收集实验数据,计算均值、标准差、CV,以 1/3 TEa 为可接受限^[2]。

1.2.2 准确度评价 测定省质控中心发放的室间质控品和免疫球蛋白校准品,计算相对偏倚。相对偏倚=[(靶值-测定值)/靶值]×100%,观察偏倚是否在参考物质允许的偏倚范围内^[2]。

1.2.3 可报告范围的评价 按有关文献要求^[2],选择检测结果达到或接近厂家提供上限(H)(IgG 36 g/L、IgA 7.0 g/L、IgM 4.0 g/L)及下限(D)(IgG 2.0 g/L、IgA 7.0 g/L、IgM 0.25 g/L)的临床标本,按 5L、4L+1H、3L+2H、2L+2H、1L+4H、

5H 的体积混合成 6 个不同浓度的样品,每个浓度样本重复检测 4 次。以预期值为 X,测定均值为 Y,计算回归方程;Y=bX+a,若相关系数大于或等于 0.975,b 在 0.97~1.03 范围内,则结果为可接受。

1.2.4 参考区间的评价 选择 20 份体检合格的健康人的标本进行检测,如果 95%以上的检测结果在参考区间内,则结果可接受;如果超过 5%检测结果,按 50 例、100 例扩大验证人群^[2]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS15.0 对相关数据进行统计分析。

2 结果

2.1 精密度试验 日内精密度:Immage800 的测定结果 IgG、IgA 比 Hitachi7180 好,而 IgM 比 Hitachi7180 的免疫比浊法精密度差,但 CV 均小于 4%。日间精密度试验结果统计见表 2,日间精密度:Immage800 的统计结果 IgG、IgA、IgM 比 Hitachi7180 差,但 CV 均<6%,均在可接受范围之内。见表 1。

2.2 准确度试验 应用已检测过的能力验证品^[2](安徽省临床检验中心发放的室间质控评)进行测定,计算相对偏倚分别为:IgG,-27.1%、7.7%、-25.3%;IgA,-38.9%、-16.2%、-35.3%;IgM,-57.1%、-40.9%、-4.3%;而允许的相对偏倚分别为 IgG 为 25%~-25%;IgA 为 25.2%~-25.2%;IgM 为 29.8%~-29.8%,从实验结果看到偏倚较大。应用校准品进行返测,计算相对偏差,结果 IgA 为 2.1%,IgG 为 3.5%,IgM 为 8.2%,相对偏倚较小。

表 1 日内精密度试验

项目	Immage800			Hitachi7180		
	<i>x</i>	SD	CV(%)	<i>x</i>	SD	CV(%)
IgG	13.55	0.188	1.41	15.47	0.328	2.12
IgA	2.54	0.033	1.30	2.59	0.045	1.75
IgM	1.01	0.056	3.48	0.94	0.022	2.34

2.3 可报告范围 是指实验室自己确立或厂商提供的检测系统患者结果的检测范围^[3]。IgG 的高浓度值为 50.8 g/L、低浓度的值为 3.62 g/L;IgA 高浓度的值 8.41 g/L、低浓度的值为 1.05 g/L;IgM 的高浓度值 10.5 g/L、低浓度的值为 0.23 g/L,按要求混合测定。预期值和测定均值见表 3,采用 SPSS 15.0 分析,结果见表 4。

2.4 参考区间的验证 参考范围是指一群人针对特定项目的检测结果的 95% 的可信区间^[3]。20 份体检合格的健康人标本在 Immage800 上测定仅一人免疫球蛋白偏高 (IgG 28.1、IgA 4.37、IgM 2.37、IgG 参考值范围为 7.0~16.0 g/L、IgA 0.7~4.0 g/L、IgM 0.4~2.3 g/L), 即 95% 人群在参考区间内, 无需扩大标本检测范围; 同时将此 20 份标本在 Hitachi7180 上用免疫透射比浊法进行测定, 测定结果 IgG 有 9 人份超出 Immage800 分析仪参考值范围, Hitachi7180 上测定的免疫球蛋白 IgG 比 Immage800 高, 只用 55% 人群在参考区间, 因此 Hitachi7180 上测定免疫球蛋白, 应建立自身的参考区间。

表 2 日间精密度试验

项目	Image800			Hitachi7180		
	<i>x</i>	SD	CV(%)	<i>x</i>	SD	CV(%)
IgG	7.40	0.300	4.050	8.010	0.094	1.17
	7.06	0.29	4.110	6.860	0.124	1.81
IgA	1.87	0.038	2.030	1.600	0.024	1.50
	1.74	0.042	2.400	1.380	0.018	1.28
IgM	0.87	0.041	4.710	0.720	0.015	2.08
	0.90	0.044	4.880	0.067	0.01	1.50

表 3 6 个浓度预期值和测定均值

项目	预期值			测定值		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
5H	50.80	8.33	10.50	50.77	8.41	10.65
4H+1L	41.40	6.87	8.45	41.77	7.24	8.88
2H+2L	27.20	4.69	5.37	26.45	5.29	5.52
2H+3L	21.77	3.93	4.34	21.32	4.62	4.14
1H+4L	13.05	2.51	2.28	12.50	2.97	2.60
5L	3.62	1.05	0.23	3.66	1.07	0.25

表 4 均值和预期值回归方程

项目	回归方程	相关系数
IgG	$Y=1.008X-0.045$	$r=0.999$
IgA	$Y=0.994X+0.995$	$r=0.987$
IgM	$Y=1.019X+0.999$	$r=0.996$

由表 4 可见相关系数均大于 0.975, 斜率均在 0.97~1.03 范围内。

3 讨 论

临床实验室对免疫技术的最基本, 最重要的要求是准确和灵敏, 其次是简便易行^[4]。精密度是指在规定条件, 各检测结果一致性的程度。人是反映仪器整体性能的首要指标, 是进行其他方法学验证的前提^[5]。实验结果显示两种方法测定 IgG、IgA、IgM 的精密度可满足临床的要求。应用速率散射免疫比浊法测定免疫球蛋白从理论上来说应比透射比浊有优势, 因为在较黑暗的背景下其仍可被测量, 有敏感的检测器, 其光源的

波长较短, 光谱范围广, 散射夹角较大, 可以适合大小不等的离子和免疫复合物能检测到较大范围的散射光, 因此, 散射比浊灵敏度^[6]。而散射比浊应用较高的标本稀释倍数, 会对精密度产生反向作用。透射比浊有着精密度的优势^[7]。从实验结果看 Immage800 测定 IgM 批内精密度比 Hitachi7180 差, 批间精密度均比 Hitachi7180 差, 分析其原因可能于仪器使用单点定标而 Hitachi7180 采用多点定标, 上机试剂没有冷藏装置及实验方法有关。免疫比浊法测定中, 吸光度与抗原浓度之间不呈线性关系, 吸光度与抗原浓度之间的关系需经过多次方程拟合成近似直线化的曲线表现出来的, 且免疫球蛋白浓度在一定范围内线性关系良好^[8]。从日内和日间精密度实验也能看出不同浓度值范围内, 免疫球蛋白的精密度存在差异, 这可能也是不同浓度值内有的批间比批内 CV 要小的原因。

准确度是大量测量结果与被测量真值之间的一致程度^[9]。它可采用与参考方法比较, 应用参考物质包括校准品、定值质控品、已检测的能力验证样品 (如临床检验中心发放的室间质控品), 计算相对偏移^[2], 试验结果表明 Immage800 测定免疫球蛋白和省临床检验中心给定的靶值相对偏移较大, 最高达到 57.1%, 且不同区域值的相对偏差不同。观察偏差的情况应属于系统误差引起的, 分析起原因可能因质控血清的基质效应的原因。另外一个原因可是靶值设定的原因。目前室间评价普遍采用同方法组均值来进行评价, 即对同一项目依据其测定方法分组评价, 这种方法虽较以前采用质控血清给定的靶值或总体均值的方法有所改进, 但仍然不能反应测定结果的准确性, 因为虽然检测方法相同, 但由于仪器, 试剂的厂家不同^[10]。采用返测校准品, 计算其相对偏差, 偏差较小, 准确度虽然符合临床要求, 但是该仪器精密度、准确性比预期的要差。

参考文献

[1] 陈华, 王永卿. 免疫透射比浊法测定类风湿因子的应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(1): 22-24.

[2] 张葵. 定量检测系统方法学性能验证实验的基本方法[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(5): 321-323.

[3] 毕波, 吕元. 定量检测方法学性能验证的系统设计[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 143-145.

[4] 李金明. 免疫测定技术的临床应用及应注意问题[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(11): 1205-1206.

[5] 徐建华, 黄宪章, 庄俊华, 等. 免疫散射比浊测定免疫球蛋白的分析性能验证与评价[J]. 检验医学, 2009, 24(5): 369-370.

[6] 李若林, 邓雪莲, 徐明辉, 等. 两种方法测定 ASO、C4 结果的可比性研究[J]. 检验医学, 2010, 31(2): 106-108.

[7] 潘柏申, 樊绮诗, 沈茜, 等. 蛋白质实验室检测项目临床应用指南[M]. 138-140.

[8] 唐维政, 谢勇. 国产透射比浊法免疫球蛋白试剂使用存在问题探讨[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(1): 76-77.

[9] Clinical and laboratory standads institute. EP6-A2 evaluation of the linearity of quantative analytical methods[S]. Wayne, PA: CLSI, 2000.

[10] 童清, 王清涛. 临床化学定量测定室间质量评价的有关问题[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(2): 131-133.