

• 检验仪器与试剂评价 •

某型号免疫化学发光仪 TSH 生物检测低限与功能灵敏度的验证

章晓鹰, 张 珏[△]

(上海中医药大学附属曙光医院检验科 200021)

摘要:目的 对 Beckman coulter DXI800 免疫化学发光仪检测促甲状腺素(TSH)的生物检测低限、生物检测限与功能灵敏度进行验证。方法 按照公司样品稀释的规定要求,制备系列浓度 TSH 样品,参照相关文献进行检测,按检测低限= $\bar{A}_0 + 3s_0$ 与生物检测限= $\bar{A} - 3s_A (> 3s_0)$ 公式计算。功能灵敏度为变异系数 20% 所对应的 TSH 平均浓度。结果 由 Beckman coulter DXI800 免疫化学发光仪检测出的 TSH 生物检测限与生物检测低限分别为 0.004 5、0.015 $\mu\text{IU/mL}$,功能灵敏度为 0.015 $\mu\text{IU/mL}$,与厂商公布结果基本一致。结论 对检测低限、生物检测限与功能灵敏度的验证对于临床低浓度的 TSH 检测结果评价具有重要意义。

关键词:促甲状腺素; 设备和供应; 生物检测限; 生物检测低限; 功能灵敏度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.09.042

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)09-1115-02

甲状腺疾病是目前内分泌疾病中最常见的一类疾病。甲状腺功能检测结果是诊断与鉴别诊断的重要依据^[1]。促甲状腺素(thyrotropin, TSH)是判断甲状腺功能体外实验的首选指标,美国国家临床生物化学协会(US Nation Association of Clinical Biochemists, NACB)1995 年提出以 TSH 检测为中心的策略评估甲状腺功能^[2],将 TSH 作为一线检测项目。在临床上对于诊断甲状腺功能亢进与降低,TSH 通常比 T₃、T₄ 等指标更加敏感。由于 TSH 在血中浓度很低,对检测系统要求非常高。为明确定性报告界限以及较好的定量报告界限,遵照医学实验室质量和能力认可准则(ISO 15189:2007)要求,各实验室应当对检测系统 TSH 的检测低限(lower limit of detection, LLD)、生物检测限(biologic limit of detection, BLD)以及功能灵敏度(functional sensitivity, FS)进行验证。

1 材料与方法

1.1 仪器 Beckman coulter Access Immunoassay System UniCel DXI800 免疫化学发光仪。

1.2 主要试剂 Beckman coulter TSH 校准品[贝克曼库尔特 TSH 校准品(批号:908052)]、Beckman coulter TSH 检测试剂(批号:909555)、Bio-Rad 质控品(批号:40220)等。

1.3 样品制备 按照 Beckman coulter 公司对 TSH 稀释的要求,将最低浓度校准品(0.100 $\mu\text{IU/mL}$)用空白 S_0 校准品按比例稀释成 0.005、0.010、0.015、0.030、0.050 $\mu\text{IU/mL}$,并依次编号为 S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 。每种浓度分装为 20 管,-20℃ 冰箱保存备用。

1.4 检测方法 S_0 样品进行 20 次批内重复测定,其他系列样品进行 20 d 的天间测定,每日 1 次,共 20 次。

1.5 LLD 的计算 根据参考文献[3-4] $LLD = \bar{A}_0 + 3s_0$ 计算(以 99.7% 为可信限)。 $\bar{A}_0$ 为空白“0”组的均值, s_0 则为空白“0”组的标准差。

1.6 BLD 的计算 根据参考文献[3-4]以 $\bar{A} - 3s_A (> 3s_0)$ 的 TSH 浓度为 BLD(以 99.7% 为可信限)。 $\bar{A}$ 为各浓度组平均值, s_A 为各浓度组的标准差。

1.7 FS 的评估 根据参考文献[3-4]FS 评估方法为以变异系数(CV)20% 所对应的 TSH 平均浓度。

2 结 果

2.1 LLD $LLD = \bar{A}_0 + 3s_0$,以 $\bar{A}_0 = 0$,则 $LLD = 3s_0$, $3s_0$ 为 1 620.7,假定这段范围内 TSH 浓度与响应量(RLU)之间呈线性关系,因此,1 620.7 相当于:0.005/1 817.65 $\times$ 1 620.7 =

0.004 5 $\mu\text{IU/mL}$ 。

2.2 BLD 0.015 $\mu\text{IU/mL}$ 实验组 99.7% 最低吸光度为 2 403.40,说明 0.015 $\mu\text{IU/mL}$ 样品吸光度有 99.7% 可能性一定大于空白吸光度,因此,0.015 $\mu\text{IU/mL}$ 为 TSH 的 BLD(表 1)。

2.3 FS 当 TSH 浓度为 0.015 $\mu\text{IU/mL}$ 时重复测定 20 次的 CV 值为 18.87%,相对其他浓度标本重复检测的 CV 值最接近 20%,所以 FS 为 0.015 $\mu\text{IU/mL}$ 。其也正好等于 BLD 估计的限值(表 1)。

表 1 各组 TSH RLU 及计算结果($\mu\text{IU/mL}$)					
项目	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5
平均 RLU($\bar{A}$)	1 817.65	3 710.35	5 539.30	11 282.75	19 000.50
RLU 标准差(s_A)	993.08	1 257.28	1 045.30	1 055.75	1 204.84
CV(%)	54.64	33.89	18.87	9.36	6.34
$\bar{A} - 3s_1$	-1 161.58	-61.49	2 403.40	8 115.50	15 385.99
	<1 620.7	<1 620.7	>1 620.7	>1 620.7	>1 620.7

3 讨 论

以 TSH 检测为中心的策略评估甲状腺功能目前已经在诊断甲状腺疾病时广泛采用。TSH 一线策略之所以能够简化试验项目,关键在于 TSH 检测的 FS 从第一代放免方法到增强化学发光法提高了 100 倍,尤其在低含量时 FS 明显提高,对 TSH 浓度变化的监测可以准确了解甲状腺功能状态^[5]。

1988 年美国国会通过的临床实验室修正法规(CLIA'88)要求各实验室对检验项目的操作进行性能验证如不精密度、不准确度、结果可报告范围、分析灵敏度、参考范围、结果的比对等^[6-9]。2004 年美国临床和实验室标准化协会(CLSI)发布了 EP-17A 文件^[10],即《检出限和定量检出限确定方案——批准指南》,该方案推荐使用空白限(limit of blank, LOB)、检出限(limit of detection, LOD)和定量检出限(limit of quantitation, LOQ)来表示检测系统或方法的灵敏性能。但目前国内实验室均参照杨有业和张秀明^[3],以及冯仁丰^[4]的生物 LLD、BLD 与 FS 的验证方法来进行,这是由于该验证方法与 EP-17A 一样,可以验证检测项目的定性、定量报告界限从而体现检测系统或检测方法的分析灵敏性能,并较之 EP-17A,此方法具有更好的可操作性。

LLD 与 BLD 的验证适用于所有定量检测项目,特别是临床上医学决定水平非常低(接近于 0)的检验项目如 TSH、甲胎蛋白(AFP)等更加具有重要意义。

[△] 通讯作者, Tel: (021) 53827187; E-mail: zhangjue425@hotmail.com。

就一般理论而言,LLD 是指能够将本底噪音与分析物区分开的待测物的最低浓度值;BLD 则指某样品单次检测可能具有的最小 RLU 刚好大于空白 LLD 的 RLU 时所对应的分析物浓度,通常可用于确定定量报告分析物的最低浓度。本研究结果显示,TSH 的检出低限为 0.004 5 $\mu\text{IU/mL}$,提示检测值大于该浓度时虽然说明样品中有分析物,但还未具备正确报告定量结果的临床意义。

除了用生物 LOD 来评估定量结果最低值以外,还可采用 FS 即日间重复 CV 值 20% 来判断定量报告分析物的最低浓度。本研究结果显示,0.015 0 $\mu\text{IU/mL}$ 浓度的 CV 值最接近 20%,从另一个侧面印证了 0.015 0 $\mu\text{IU/mL}$ 是 TSH 的 BLD,也说明了能够较好地正确报告定量结果的最低浓度应当为 0.015 0 $\mu\text{IU/mL}$,并且该结果与厂商公布的 FS 为 0.015 0 $\mu\text{IU/mL}$ 一致。

参考文献:

[1] 杜彦丹,孙刚,孙辉,等. ROCHE E2010 检测系统测定促甲状腺激素(TSH)分析灵敏度与功能灵敏度的验证[J]. 内蒙古医学杂志, 2010,42(5):568-570.
[2] Stockigt JR. Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease;nonthyroidal illness[J]. Clin Chem,1996,42:188-192.

• 检验仪器与试剂评价 •

[3] 杨有业,张秀明. 临床检验方法与评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:146-153.
[4] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2007:58-66.
[5] 郑沁,黄亨建,张国强,等. Roche E170 检测系统测定促甲状腺激素(TSH)分析灵敏度的验证[J]. 现代检验医学杂志,2007,22(3):58-60.
[6] 李启欣,李炜焯,陈斌鸿,等. 不同化学发光检测系统 FT3、FT4、TSH 结果的可比性和偏倚评估[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(8):790-791.
[7] 陈茶,黄彬,丁海明,等. 不同检测系统促甲状腺激素测定结果的偏倚评价[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(3):193-195.
[8] 郑松柏,张伟铮,张秀明,等. 化学发光法检测甲胎蛋白的生物检测限和功能灵敏度研究[J]. 现代检验医学杂志,2007,22(5):52-54.
[9] 孙云,韩凤霞,朱萍,等. 5 种肿瘤标志物分析灵敏度的建立[J]. 上海医学检验杂志,2003,18(6):374-376.
[10] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP-17A Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation;approved guideline[S]. Wayne PA;NCCLS,2004:1-39.

(收稿日期:2012-01-08)

不同抗凝剂对离子选择电极法检测钾钠氯的影响

郭旭光,邓穗燕,唐希才,夏 勇

(广州医学院第三附属医院检验科,广州 510150)

摘 要:目的 研究不同抗凝剂对离子选择电极法检测血钾钠氯的影响,以减少检验结果分析前误差。方法 用离子选择电极法检测不同抗凝剂的血清钾钠氯,并进行比较。结果 用乙二胺四乙酸(EDTA)作抗凝剂检测血钾时血钾水平比无抗凝剂组显著增高($P<0.01$),用枸橼酸钠作抗凝剂检测血钠时血钠水平比无抗凝剂组显著增高($P<0.01$),用 EDTA 或枸橼酸钠作抗凝剂检测血氯时血氯水平与无抗凝剂组比较无明显变化($P>0.01$)。结论 EDTA 作抗凝剂检测血钾时会造成血钾假性升高,枸橼酸钠作抗凝剂检测血钠时会造成血钠假性升高。因此,在检测血钾钠时要选择合适的抗凝剂,对于减少分析前检验误差有很重要的作用。

关键词:离子; 钾; 钠; 氯; 抗凝剂; 离子选择电极法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.09.043 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)09-1116-02

有研究表明分析前误差占整个检验结果误差的 70%,但基于这方面的具体研究较少见。血钾钠氯作为临床常用急诊生化检验项目其影响因素颇多,使用不同抗凝剂对离子水平都有不同程度影响。为明确不同抗凝剂对离子检验结果的影响程度,为合理选用抗凝剂和避免分析前误差提供理论依据,作者对其进行了研究。

1 资料与方法

1.1 样本收集与处理 选择本院住院患者 113 例,按常规方法分别用真空红色头采血管(不抗凝,无抗凝剂组)和蓝色头枸橼酸钠抗凝采血管(枸橼酸钠组),紫色头乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid,EDTA)采血管(EDTA 组)各抽取静脉血 4 mL,红色头管于 37℃、放置 20 min 后离心分离血清,蓝色和紫色头管注入血后立即颠倒混匀,离心分离血浆。

1.2 仪器与试剂 所用仪器为美国贝克曼公司生产的 Aero-set 全自动生化分析仪,可直接通过电极法测定钾钠氯。试剂由日本第一化学药品株式会社以及瑞士罗氏公司提供,严格按说明书操作。

1.3 统计学处理 数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,用 SPSS17.0 统计软件进行分析,采用配对 t 检验。

2 结 果

2.1 不同抗凝剂对血钾检测结果的影响 见图 1。

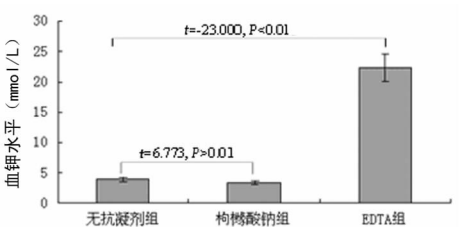


图 1 不同抗凝剂对血钾检测结果的影响($n=113$)

2.2 不同抗凝剂对血钠检测结果的影响 见图 2。

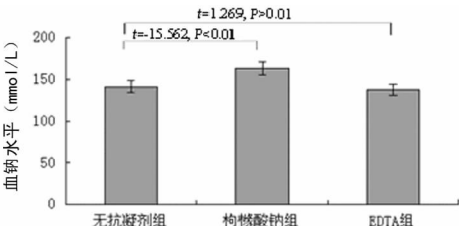


图 2 不同抗凝剂对血钠检测结果的影响($n=113$)