

求,其结果在 5 家医院间都可以互认。从珠海地区第一次进行常用生化项目比对的情况看,各医院的检测结果基本都比较一致,这给各医院间的结果互认打下很好的基础。当然这与珠海地区参加比对的实验室条件有很大的关系。各实验室所使用的仪器性能都比较好,参评项目所使用的方法较为一致,另外各实验室都很重视质量管理,仪器的使用、保养、校正都很规范,也都参加了省、部两级室内质量评价活动。

实验室结果的比对是检验结果互认的基础,实现检验结果互认的主要途径是建立有效的标准品溯源体系^[4-5]。虽然 ISO/IEC17025^[6]和 ISO/15189 都对检验结果的溯源性和可比性提出了明确的要求^[7],强调方法学比较试验(比对试验)是实现准确度溯源和患者标本检验结果在不同实验室间具有可比性的基础。然而,目前中国各地绝大多数医院检验科都没有经过 ISO/IEC17025 或者 ISO/15189 家的认证。因此使用此两个标准进行实验室间的比对是不现实的。对两个检测系统一致性的比对中,*t* 检验和回归统计均可对偏倚进行评估,使用回归统计的方法可对实验结果的偏差进行定量评估,但 *t* 检验只说明 2 个比较的方法在结果的均值处有无偏倚,并不能说明是否在其他分析浓度处的比较情况^[8]。在对多个检测系统进行比对时,无论使用 *t* 检验或者回归统计都有其局限性。因此,使用一种较为简单可行且容易被大家接受的比对方法是实现医院间检验结果互认的基础。使用 CLIA'88 的允许误差或者实验室能力比对 PT 评分法是目前使用较为普遍的做法^[9-10]。通过使用患者的新鲜血清来避免质控品的基质干扰也是较为常用的。珠海地区地域不大,各比对实验室间都在半小时车程以内,因此也给此次比对提供了便利。下一步作者将探索确立质控品的定值问题,使各实验室通过对定值标准品的检测来校准参加比对的仪器,从而做到全市统一标准,真正做到常规生

• 质控与标规 •

化项目的互认互通。

参考文献

[1] 卫生部办公厅. 关于关于医疗机构间医学检验、医学影像互认有关问题的通知[S]. 2006-02-24.

[2] Department of Health and Human Services, Center for Medicare and Medicaid Services. CLIA'88 Final Rule[S]. Federal Register, 1992.

[3] 童清,王清涛. 北京市临床化学常规检测项目室内变异现场调查结果分析[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(7): 757-761.

[4] 洪立. 医疗机构间临床检验结果互认的探讨[J]. 中国医院, 2007, 11(4): 20-22.

[5] 杨振华. 参考体系是检验结果通用的科学基础[J]. 中国医院, 2006, 10(6): 4-6.

[6] International Organization for standardization. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories[S]. ISO/IEC17025, International Organization for Standardization, Geneva, 1999.

[7] 魏吴,丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2004: 72-75.

[8] 初开秋,任立晟. 同种项目在不同生化分析仪测定结果的偏倚评估与可比性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(9): 853-854.

[9] 韩刚,吴远江. 实验室间部分生化项目比对的探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(7): 80-81.

[10] 沈波,陆如岳. 不同医院生化、血液检测结果可比性研究初探[J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17(5): 317-318.

(收稿日期: 2012-01-08)

LC-MS/MS 法检测他克莫司血药浓度室内质控回顾性分析

王 燕¹, 李鹏飞¹, 马 萍¹, 安卓玲¹, 胡范文², 刘丽宏¹

(1. 解放军第二炮兵总医院, 北京 100088; 2. 泰山医学院药学院, 山东泰安 271016)

摘要:目的 评价 LC-MS/MS 法他克莫司试剂盒检测他克莫司血药浓度的可靠性。方法 对近 2 年室内质控结果进行回顾性分析,并对各组数据进行统计学分析,从检测结果的回收率、合格率、标曲的相关性等指标进行评价。结果 低、中、高浓度的质控样品的 RSD 分别为 7.68%、7.35%、6.70%,合格率分别为 98.10%、96.47%、97.10%。结论 此检测方法操作简便、测定结果准确可靠,适用于临床上对他克莫司血药浓度的测定。

关键词:他克莫司; 色谱法,高压液相; 质谱分析法; 质量控制

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.15.036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)15-1873-03

他克莫司(FK506)属于大环内酯类免疫抑制剂,临床上广泛用于器官移植和自身免疫系统疾病的治疗^[1],由于其个体差异大,有效血药浓度范围窄,血药浓度监测对于优化临床给药方案、减少不良反应的发生具有重要意义。测定结果的准确性和稳定性是制定合理给药方案的前提^[2]。目前,临床常用的 FK506 血药浓度监测方法有微粒子捕捉酶免疫发光技术(MEIA)^[3]、酶联吸附免疫分析技术(ELISA)^[4]和液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法^[5]。本单位使用的是 LC-MS/MS 法检测 FK506 血药浓度,为评估该检测方法的准确性和稳定性,现对 2009 年 10 月至 2011 年 10 月期间室内质控结果进行回顾性分析,以指导今后他克莫司血药浓度监测工作,从而促进临床更加合理地使用他克莫司用于疾病的治疗。

1 材料与方法

1.1 试剂 他克莫司试剂盒(批号:080723);甲醇、乙酸铵均为分析纯。

1.2 检测仪器 3200QTRAP 型液相色谱-串联质谱仪,配有电喷雾离子化源(ESI)以及 Analyst 1.5 数据处理软件,美国 Applied Biosystem 公司;Agilent 1100 高效液相色谱系统,包括四元输液泵,自动进样器,切换阀,美国 Agilent 公司。

1.3 测定方法 精密取全血样品 100 μL 置 1.5 mL EP 管中,加入 A1 溶液(100 mM 硫酸锌水溶液)100 μL,再加入 A2 溶液(20 ng/mL 子囊霉素乙腈溶液)300 μL,涡流混匀 2 min,静置 30 min,离心 5 min(12 000 r/min),取上清液进样 20 μL,进行

LC-MS/MS 定量分析。

1.4 质控品测定 在样品测定时,同时测定一个标准全血 FK506 质控品,质控样品分低浓度质控(L)、中浓度质控(M)、高浓度质控(H)。操作方法与临床血样处理过程完全相同。

1.5 质控数据收集与处理 对 2009 年 10 月至 2011 年 10 月两年的质控样本进行回顾性收集、整理,对各组数据进行统计学分析,计算得到平均值、RSD、回收率以及 95% 置信区间。

1.6 质控合格判定标准 低浓度质控样品测定结果的偏差在 20% 以内,中、高浓度点质控样品的偏差在 15% 以内。

1.7 统计学处理 对每个批次标准曲线的回归方程及相关系数、两个批次间的时间间隔及平均值进行统计。

2 结 果

2.1 共测定质控 L 158 个、M 170 个、H 69 个,绘制质控值分布图,见图 1。FK506 质控值趋向于正态分布,在标示值上下波动,FK506 的平均值与标示值较为接近。L、M、H 的平均回收率分别为 101.00%、100.96%、102.14%,符合准确度应在 85%~115% 的范围。RSD 分别为 7.68%、7.35%、6.70%,符合中国药典对生物样品检测 RSD 应小于 15% 的要求,见表 1。

2.2 所有低、中、高浓度的质控样品按质控合格标准判定,其合格率均大于 95%,见表 2。

2.3 2 年内共测定 27 个分析批,每个分析批均建立新的标准曲线,每个批次标准曲线回归方程(Y=aX+b)及相关系数(r)的各参数见表 3,r 平均值为 0.998 0。

表 1 FK506 随行质控平均值

标示值(μg/L)	测定值(μg/L)	回收率(%)	RSD(%)
L(2.5)	2.53±0.20	101.00	7.68
M(10)	10.10±0.74	100.96	7.35
H(40)	40.86±2.74	102.14	6.70

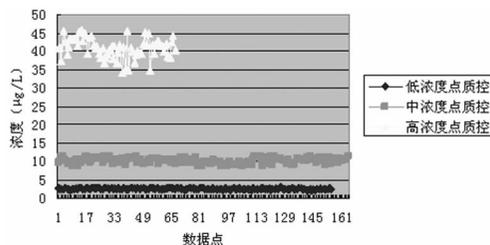


图 1 他克莫司质控分布图

表 2 质控样品的合格率

项目	质控总数(n)	合格数量(n)	合格率(%)
L	158	155	98.10
M	170	164	96.47
H	69	67	97.10

表 3 标准曲线回归方程各参数

批次	a	b	r	批次	a	b	r
run01	0.012 8	0.000 97	0.998 8	run16	0.012 5	0.001 27	0.999 8
run02	0.013 1	0.000 99	0.999 7	run17	0.012 7	0.001 17	0.999 6
run03	0.010 0	0.000 96	0.999 5	run18	0.013 0	0.000 96	0.999 2
run04	0.012 0	0.001 15	0.999 6	run19	0.013 0	0.000 96	0.999 6
run05	0.011 7	0.001 14	0.999 6	run20	0.012 7	0.000 99	0.999 6
run06	0.012 5	0.001 17	0.998 9	run21	0.014 5	0.001 59	1.000 0
run07	0.011 1	0.001 10	0.999 8	run22	0.014 6	0.001 22	0.996 2
run08	0.010 3	0.001 34	0.995 9	run23	0.012 4	0.001 15	0.995 8
run09	0.012 5	0.001 17	0.996 1	run24	0.013 3	0.001 07	0.997 5
run10	0.011 8	0.001 24	0.997 2	run25	0.012 3	0.001 26	0.998 6
run11	0.011 1	0.001 11	0.988 9	run26	0.013 2	0.001 24	0.993 1
run12	0.010 5	0.001 13	0.999 3	run27	0.012 9	0.001 28	0.997 2
run13	0.010 9	0.001 07	0.999 7	平均值	0.012 4	0.001 16	0.998 0
run14	0.013 8	0.001 14	0.997 2	SD	0.001 2	0.000 17	0.002 5
run15	0.013 7	0.001 61	0.997 9	RSD	9.736 9	14.386 3	0.254 0

2.4 经统计,27 个分析批间的间隔天数不等,间隔时间为 17~41 d,平均是 31.7 d。

3 讨 论

治疗药物监测是指根据测定的药物浓度制定个体化给药方案,其测定结果的准确性直接影响到最终个体用药方案的质量^[6]。室内质控是保证临床实验室发出高质量报告的基本要求。本单位使用 LC-MS/MS 法测定他克莫司的血药浓度,其测定结果为原型药物浓度,能更准确地说明药物浓度-疗效-不良反应三者之间的关系,是目前精确度、灵敏度高,且特异性好的他克莫司血药浓度测定方法。通过对近 2 年室内质控的回顾性分析,其低、中、高浓度质控的 RSD 分别为 7.68%、7.35%、6.70%,比 MEIA^[7] 和酶放大免疫分析技术(EMIT)^[8] 的 RSD 均小,说明此方法可以满足临床准确测定的要求,且测

定值更加准确可靠。本单位使用的试剂盒检测方法是经过标准化的,大约每月(31.7 d)只需处理一条标准曲线,这比每天处理标准曲线大大节省了检测的时间和费用,从而更加适合于临床的使用和推广。

目前国内对 FK506 血药浓度的常规监测方法仍为 MEIA 法和 ELISA 法,一方面因为 LC-MS/MS 的仪器较 MEIA 法和 ELISA 法的仪器贵,一般实验室难以普及;更主要的原因是 LC-MS/MS 法目前仍只是在一些实验室中被使用,而每个实验室所建立的方法各不相同,缺乏一个商业化的规范操作规程,使得此方法无法得到广大医生的认可。随着分析技术的不断发展,LC-MS/MS 法因其具有低成本、高准确度的特点,将成为现代分析仪器的主流,使得 LC-MS/MS 法将逐渐取代免疫分析技术成为免疫抑制剂临床血药浓度监测的常规方法。

参考文献

[1] 丁俊. 他克莫司的药理作用及临床应用研究概况[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(17): 1347-1348.
 [2] 张东东, 乔薇. 检验医学分析前质量控制的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 890-891.
 [3] 方崇波. 微粒子酶免疫法测定全血中他克莫司浓度应注意的几个问题[J]. 中国药业, 2009, 18(15): 50.
 [4] 董新华, 尚丽红. 他克莫司血药浓度检测方法比较与差异研究[J]. 临床医药实践, 2010, 19(6A): 430-431.

[5] 李鹏飞, 刘丽宏, 马萍, 等. 高效液相色谱-串联质谱法在他克莫司临床血药浓度监测中的应用[J]. 质谱学报, 2008, 29(3): 137-143.
 [6] 方崇波. 运用 Excel 建立他克莫司 TDM 室内质控方法[J]. 海峡药学, 2008, 20(3): 69-70.
 [7] 江桂芬, 周志凌. 他克莫司室内质控失控分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(11): 1126.
 [8] 蒋艳, 邹素兰, 夏宗玲. 室内质量控制在 EMIT 法监测他克莫司血药浓度中的应用[J]. 中国药房, 2011, 22(25): 2342-2343.

(收稿日期: 2011-12-02)

• 质控与标规 •

自制糖化血红蛋白质控物的实验探讨

王树辉, 李贵芳, 凌晓舞
 (贵州省人民医院检验科, 贵阳 550002)

摘要:目的 自制糖化血红蛋白质控物, 用于全自动生化分析仪测定糖化血红蛋白的内部质量控制, 并评价其稳定性。方法 采集混合新鲜健康人全血, 灭活, 加入叠氮钠防腐, 分装, 低温保存。连续 5 个月在奥林巴斯 AU5400 生化分析仪上分析质控品的 HbA1c 的结果及其标准差和 CV。结果 贮存于 -70 °C 自制的糖化血红蛋白的质控品复溶后, 在奥林巴斯 AU5400 全自动生化分析仪上所测得的 HbA1c 值 5 个月均值都很稳定, 每个月的 CV 值都小于 5%, 各个月的检测结果对比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。这 5 个月的总的 HbA1c 值变异低于 5%。结论 自制糖化血红蛋白质控物基本上符合临床使用的要求, 是良好的室内质量监测的质控品。

关键词: 血红蛋白 A, 糖基化; 自制质控品; 质量控制

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.15.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)15-1875-02

糖尿病是由多种原因引起的以慢性高血糖为特征的代谢紊乱^[1], 传统诊断糖尿病是依据血液中的葡萄糖(简称血糖)浓度。血糖监测只是过程, 其目标是衡量 HbA1c, 它是糖尿病患者血糖水平病情评估的金标准, 在糖尿病患者血糖水平监控的应用已成为一种趋势^[2]。最近, 国际糖尿病专家委员会报道, 推荐用测定血中糖化血红蛋白(HbA1c)含量来诊断糖尿病^[3]。糖化血红蛋白是血红蛋白在高血糖的作用下发生缓慢连续的非酶促糖化反应的产物, 其主要形式为 HbA1c^[4]。目前许多实验室所使用的糖化血红蛋白质控品为进口的质控物, 而自制糖化血红蛋白质控品的研究, 最终研究配制出配方合理、成本低廉、结果稳定的液体生化质控物, 本文通过利用实验室检测后的标本采集新鲜全血, 来制备糖化血红蛋白质控物, 然后保存于 -70 °C 以下, 通过连续 5 个月检测来对其精密度和准确度进行探讨, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器 奥林巴斯 AU5400 生化分析仪。

1.2 试剂 糖化血红蛋白(HbA1c)前处理液由日本积水医疗株式会社生产, 批号: 817REH; 罗氏 HbA1c 试剂由日本积水医疗株式会社生产, 批号: 810RBH, 罗氏试剂附带定标液(Cat. No. 137 318-01)。

1.3 方 法

1.3.1 全血质控物的制备 采集混合新鲜健康人全血, 灭活, 用 0.02% 的叠氮钠防腐^[5], 按一次使用的量分装 1 mL 离心管, 封口, -70 °C 保存备用^[6]。每次质控时取出一支经室温平衡 10 min(用时不可反复冻融), 以 1:20 加入 HbA1c 处理液, 充分混匀; 混匀后, 同一天内在奥林巴斯 AU5400 上对自制糖化血红蛋白全血质控物的 HbA1c, 连续测定 20 次, 结果取其平均值并记录结果, 同时计算每个月的均值、标准差和 CV 值,

连续进行 5 个月(2010 年 5~9 月)检测, 以第 1 个月的均值、标准差为靶值进行比较^[7]。如表 1; 最后将这 5 个月的 HbA1c 质控数据汇集在一起, 计算累积平均值、标准差及 CV。

1.3.2 统计学处理 采用 *t* 检验。

2 结 果

2.1 每个月的结果如表 1 所示, 5 个月的 HbA1c 均值都很稳定, 每个月的 CV 值均小于 5%, 各个月的检测结果对比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 自制糖化血红蛋白质控品 HbA1c 检测结果

时间(月)	<i>n</i>	\bar{x}	<i>s</i>	CV(%)
5	20	6.17	0.15	2.43
6	20	6.11	0.13	2.13
7	20	6.17	0.12	1.94
8	20	6.19	0.11	1.78
9	20	6.09	0.08	1.31

*: $P > 0.05$, 与第 1 个月检测结果对比, 差异无统计学意义。

2.2 这 5 个月的最后均值、标准差及其 CV 为 6.15、0.24 和 3.9。HbA1c 的变异低于 5%。

3 讨 论

室内质量控制是实验室质量保证体系中的重要组成部分, 其目的是为了保证每例患者样本测定结果的稳定性和可靠性。一是精密度高, 即测定结果的重复性好, 实验室每天测定的结果变化很小, 消除或减少随机误差造成的影响; 二是准确度高, 即测定结果正确, 接近真值。主要消除或减少系统误差的影响^[8]。质控物在临床化学室内质量控制工作中起着重要的作用^[6]。过去国外的学者主要针对冻干质控物进行研究, 冻干质控物虽有在 40 °C 的条件下储存时间长, 便于运输等优点, 却存在复溶后需尽快使用、需准确加入定量的重蒸水、复溶后的质