

• 临床检验研究论著 •

# 罗氏 ModularDDP 全自动生化分析仪检测血清铁的方法学评价及参考区间建立

廖君群, 毕小云

(重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

**摘要:**目的 对罗氏 ModularDDP 全自动生化分析仪血清铁(SI)的检测进行方法学评价,并建立本实验室的参考区间。方法 用 FerroZine 法检测 SI,依据美国临床实验室标准化委员会 EP 文件要求验证精密度、准确度、线性范围、检测限(检出限)、抗干扰试验,并取 240 例健康体检者样本,建立本实验室的参考区间。结果 经检测显示:本实验室 SI 检测的精密度小于 2%,准确度 97.93%~103.48%,线性范围 0.95~184.40  $\mu\text{mol/L}$ ,最低检出限为 0.28  $\mu\text{mol/L}$ ;血红蛋白浓度小于 2.88 g/L,三酰甘油浓度小于 72.45 mmol/L 时无明显干扰;本实验室血清铁参考区间为男:7.14~35.66  $\mu\text{mol/L}$ ;女:5.94~27.40  $\mu\text{mol/L}$ 。结论 本系统检测性能符合美国病理学家协会(CAP)要求,参考区间与《全国临床检验操作规程》(第 3 版)血清铁测定的参考区间有明显差异,说明该参考区间不可直接引用,也说明了进行方法学评价的重要性。

**关键词:**铁蛋白质类; 实验室技术和方法; 参考值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.23.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)23-2875-02

## The method of evaluation and establishment of reference intervals of serum iron in the Roche ModularDDP automatic biochemical analyzer

Liao Junqun, Bi Xiaoyun

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract:** Objective To evaluate the serum iron(SI) detection method in the Roche ModularDDP automatic biochemical analyzer, and establish the laboratory reference range. **Methods** We collected 240 samples of healthy people, detected SI with FerroZine spectrophotometry and established the laboratory reference interval. According to American Society for Clinical Laboratory Standards Committee EP documents, the detection of SI was evaluated with the precision, accuracy, linearity, detection limit (detection limit) and interference. **Results** The accuracy of SI was below 2%, the accuracy was between 97.93% and 103.48%, with minimum detection limit as 0.28  $\mu\text{mol/L}$ , the linearity was from 0.95  $\mu\text{mol/L}$  to 184.40  $\mu\text{mol/L}$ . Hemoglobin ( $<1.3 \text{ g/L}$ ) and Triglyceride ( $<50 \text{ mmol/L}$ ) in the sample had no significant interference in the assay. Our laboratory serum ferritin reference interval for men was 7.14~35.66  $\mu\text{mol/L}$ , and for women was 5.94~27.40  $\mu\text{mol/L}$ . **Conclusion** The detection performance of the system is in line with the College of American Pathologists(CAP), while the reference interval has significant difference with the "Clinical Laboratory Procedures(Third edition) reference intervals for serum iron determination. The results displays that the reference ranges can not be directly quoted, and suggests the importance of a methodological evaluation.

**Key words:** ferritins; laboratory techniques and procedures; reference values

铁是制造血红蛋白和肌红蛋白重要原料,血清铁(SI)可以反映体内铁的含量<sup>[1]</sup>。SI 检测在分析各种贫血原因、鉴别肝细胞性和阻塞性黄疸等方面发挥着重要作用<sup>[2]</sup>。目前检测 SI 多采用化学比色法,如本实验室采用的 FerroZine 法。根据美国病理学家协会(CAP)对实验室质量管理要求<sup>[3]</sup>和实验室认可的要求<sup>[4]</sup>,每个实验室必须对检测系统进行方法学评价和根据各自的就诊人群建立本实验室的参考区间。因此,笔者对本实验室 SI 的检测系统进行方法学评价<sup>[5]</sup>,并建立本实验室 SI 的参考区间。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 健康对照人群为本院健康体检者 240 例,其中男、女各 120 例,年龄 8~81 岁。参照样本为收集日常检测的患者血清低、高值样本。

**1.2 仪器与试剂** SI 检测试剂盒(FerroZine 法),批号:634300,由瑞士罗氏公司提供;(2)校准品:罗氏公司提供的 Cfas 多项生化校准品,批号为 155449,其中 SI 浓度为 34.9  $\mu\text{mol/L}$ ;(3)质控品:罗氏公司提供的多项生化质控品,批号为 PNU153705/PPU156026,定值分别为 19.9  $\mu\text{mol/L}$ 、44.8

$\mu\text{mol/L}$ 。瑞士罗氏公司生产的 ModularDDP 全自动生化分析仪。

**1.3 方法** 用真空负压管按常规采血方法采血 3 mL,37℃ 孵育 10~15 min,2 500~3 000 r/min,离心 5~10 min。原管直接上机检测。

**1.3.1 精密度评价** 选择低、高两个水平的混合血清,在 1 d 内连续测定 20 次,计算均值,SD,变异系数 CV(%),评价批内 CV;用低、高值质控品每天测 1 次,连续测定 20 d,计算均值,SD,变异系数 CV(%),评价批间 CV。判断依据与标准以美国 CLIA'88 能力验证计划的分析质量要求中规定允许总误差(TEa)的 1/4 为批内不精密度判断低限,1/3 为批间不精度判断低限,即批内小于或等于 5%,CV<sub>总</sub> 小于或等于 6.67%。

**1.3.2 准确度验证** 以回收试验进行评估。判断标准为每个样本回收率与平均回收率的差值应小于±10%,比例系统误差 $<5\%$ 。

**1.3.3 线性评价** 选取新鲜高值血清(H),浓度为 184.40  $\mu\text{mol/L}$ 。低值血清(L),浓度为 0.95  $\mu\text{mol/L}$  各 1 份,将 H 和 L 按 L、H+4L、2H+3L、3H+2L、4H+L、H 的关系各自配制

混合,形成系列样品,每份样品重复测定 2 次,计算均值。判断依据与标准依据试剂盒说明书得到线性范围为:0. 90~179 μmol/L,要求在线性范围内 R2>0. 95。

1.3.4 检测限评价 通过重复 10 次检测空白溶液获得的空白值 Xbl,标准差 S 来估计检测限 XL。计算检测限为:XL=Xbl+kSbl,其中 k 值为 3<sup>[6]</sup>。

1.3.5 特异性评价 通过评价由于在标本中出现血红蛋白(Hb)和脂类的干扰来检验方法的特异性,即干扰试验。(1)Hb 干扰:在无 Hb 的混合血清中分别不同浓度的 Hb,使 Hb 终浓度分别为 5. 2、2. 6、1. 3、0. 65、0. 325、0. 1625、0 g/L,在无溶血混合血清中分别加入等体积不同浓度的 Hb 液,分别检测原血清及含不同浓度 Hb 血清的 SI,各检测 3 次,取平均值,计算 Hb 的干扰率。(2)脂类干扰:参照 Hb 干扰试验,其中三酰甘油终浓度分别为 50、24、12、6、3、1. 5、0 mmol/L。判断依据与标准为:将美国 CLIA'88 能力验证计划的分析质量要求中规定允许总误差(TEa)作为可接受误差的判断标准,即干扰小于 20%为干扰物不会对测定值造成影响。

1.3.6 参考区间验证 验证《全国临床检验操作规程》第 3 版<sup>[7]</sup>SI 测定的参考区间:男 11~30 μmol/L;女 9~27 μmol/L。考察有多少样本的检测结果显示落在这个参考范围内。

1.3.7 参考区间建立 计算出适合本实验室的 SI 参考区间 95%可置信区间。

1.4 统计学处理 所有数据用 Microsoft Excel 2003 进行处理,并进行相关回归分析。

## 2 结 果

2.1 精密度评价 批内和批间精密度结果显示:批内 CV 小于 1/4TEa,批间 CV 小于 1/3TEa,检测系统精密度可接受。见表 1。

SI 水平	批内		批间	
	$\bar{x}\pm s(\mu\text{mol/L})$	CV(%)	$\bar{x}\pm s(\mu\text{mol/L})$	CV(%)
低值	10.00±0.19	1.93	20.12±0.26	1.31
高值	30.81±0.19	0.62	45.51±0.59	1.30

2.2 准确度验证 通过加入不同浓度干扰物质,计算 SI 回收率,结果显示本系统检测 SI 平均回收率为 100. 7%,每个样本回收率与平均回收率的差值分别为 2. 77%和-2. 77%,比例系统误差为 0. 7%,符合要求。见表 2。

表 2 SI 回收试验结果				
项目	基础样本	分析样本 1	分析样本 2	均值
测定浓度(mg/L)	7. 63	9. 07	10. 70	—
加入浓度(mg/L)	—	1. 46	2. 96	—
回收浓度(mg/L)	—	1. 43	3. 07	—
回收率(%)	—	97. 93	103. 48	100. 7
差值(%)*	—	-2. 77	2. 77	—

\*:各样本回收率与平均回收率差值。—:无数据。

2.3 线性评价 本系统 SI 测定在 0. 95~184. 40 μmol/L 范围内呈线性,回归方程及相关系数的平方如下:Y=0. 999 6X-0. 247 2,r<sup>2</sup>=1。见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.4 检测限评价 本系统检测 SI 最低检出限为 0. 28 μmol/L。

2.5 特异性评价 经分析显示,Hb 对本系统检测 SI 干扰的线性方程为 Y=0. 069 25+6. 909 43X,r<sup>2</sup>=0. 997 1。当干扰率为 20%时,此时 Hb 的终浓度为 2. 88 g/L,即 Hb 浓度小于 2. 88 g/L 时对 SI 的检测结果显示无影响。

三酰甘油对本系统检测 SI 干扰的线性方程为 Y=0. 779 49-0. 286 8X,r<sup>2</sup>=0. 947 2。当干扰率为 20%时,此时三酰甘油的终浓度为 72. 45 mmol/L,即三酰甘油浓度小于 72. 45 mmol/L 时对 SI 的检测结果显示无影响。

2.6 参考区间验证 通过参考区间验证,40 例受检者中有 10 例受检者的检测结果显示在被验证参考区间外,与被验证参考范围有统计学差异(P<0. 05)。

2.7 参考区间建立 通过对 240 例健康体检者 SI 检测结果显示,结果显示受检者 SI 的分布符合正态分布,其 95%置信区间可用( $\bar{x}-s\sim\bar{x}+s$ )表示,即男:7. 14~35. 66 μmol/L;女:5. 94~27. 40 μmol/L。

## 3 讨 论

为保证检验质量,检验科新检测系统或新项目正式使用前,必须要用实验去评价检测系统的基本性能<sup>[8]</sup>。由制造商进行的建立、证实或确认实验往往是大型的、相对复杂的实验方案,并且没有针对性,而由医学检验实验室进行的验证实验的实验方案则要求简便、实用且易于操作<sup>[9]</sup>。本实验室在开展 SI 检测前,应用本检测系统对厂商说明书提供的参数进行了验证。

通过对低、高值混合血清的检测,得出本系统检测 SI 的批内 CV 分别为 1. 93%和 0. 62%;通过对低高值质控品的检测,得出批间 CV 分别为 1. 31%和 1. 30%,符合本实验室的要求。通过线性评价,得出本系统 SI 测定的线性范围是 0. 95~184. 40 μmol/L,符合临床试验要求;通过实验显示 SI 最低检出限为 0. 28 μmol/L,对临床结果的解释判断提供了一定依据。

参考文献<sup>[10]</sup>指出,回收是指将已知量物质加入到真实样本中,正确地测量分析物的能力。当分析参考方法和参考物质受到局限或不可获得时,回收试验可以说是评价准确度的唯一实际方法。本研究显示平均回收率为 100. 7%,比例系统误差为 0. 7%,在可接受范围,故本检测系统对 SI 浓度检测的准确度是可靠的。本实验也表明,Hb<0. 8 g/L,三酰甘油浓度小于 50 mmol/L 时不会对 SI 的测定造成影响。

本实验通过对参考区间进行验证发现,SI 检测不能引用《全国临床检验操作规程(第 3 版)》提供的 Fe 参考区间,说明可能存在人群及检测系统的差异<sup>[11]</sup>。由此可见,每个实验室必须建立自己的参考区间,使临床诊断更为合理,更为科学。本实验取 95% 分布范围的大小表示参考区间,SI 浓度男:11~30 μmol/L,女:9~27 μmol/L。

通过本次实验,说明本检测系统的各项性能指标符合厂商说明书要求,但参考区间有很大差别,也说明了进行性能评价实验的必要性和重要性<sup>[12]</sup>。

## 参考文献

[1] 何育才. 血清铁检测在高血压合并血脂症患者中的临床研究[J]. 中国中医药咨讯,2011,3(23):258.  
[2] 叶国祥,叶正龙,何广胜. 检测血清铁和转铁蛋白对早期缺铁性贫血的价值[J]. 浙江临床医学,2011,13(10):1172-1173. (下转第 2878 页)

表 2 40 例甲减患者治疗前及治疗后相关项目检测结果的变化

项目	FT3(pmol/L)	FT4(pmol/L)	TSH(mIU/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	Hcy(μmol/L)	CK(U/L)
治疗前	1.55±0.85	7.20±2.92	24.6±5.91	3.38±0.70	7.79±2.41	5.46±1.65	19.35±4.23	598.1±177.6
治疗后	7.06±2.01	16.39±3.86	1.80±1.01	2.40±0.68	4.58±1.15	3.36±1.65	11.19±3.73	236.1±72.4
t	16.23	13.45	16.89	14.04	15.39	42.79	52.26	22.97
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 40 例甲减患者经临床两个月治疗后,临床症状逐渐减轻或消失;血清 FT3、FT4 由低逐渐升高至恢复正常,TSH 也出现降低;TG、TC、LDL-C、Hcy、CK 均有很大程度下降,所有检测项目在治疗前后差异存在统计学意义( $P<0.01$ ),见表 2。

3 讨 论

甲减患者体内甲状腺激素水平下降,可引起机体脂肪代谢异常,即引起血清中 TC、TG 水平升高。从表 1 中可以看出,甲减患者血清 TC、TG、LDL-C 水平明显高于健康者,两者之间差异存在统计学意义( $P<0.01$ )。目前,体内外研究均已证实甲状腺激素可调节 LDL 受体活性。甲减时,由于肝细胞表面的 LDL 受体表达下降,血清 LDL 颗粒的清除被延迟,LDL-C 水平升高,继而引起血清 TC、TG 水平升高<sup>[3-4]</sup>。经过临床治疗后,患者体内甲状腺激素水平恢复正常,LDL 受体活性增强,LDL 颗粒得到及时消除,从而降低血脂水平。从表 2 可以看出,40 例甲减患者治疗后血脂水平较治疗前有明显下降,两者之间差异存在统计学意义( $P<0.01$ )<sup>[5]</sup>。

从表 1 可以看出,甲减患者 CK 水平较健康者有明显升高( $P<0.01$ ),可能是由于甲状腺激素分泌不足,引起全身的组织细胞核酸与蛋白质的合成、代谢及酶系统的活性均减弱,酸性黏多糖及黏蛋白在全身组织沉积,心肌间质黏液性水肿,心肌张力减退和肥大,严重者心肌纤维断裂坏死,导致肌酶从细胞内溢出,从而使血清 CK 升高<sup>[6]</sup>。临床医生可能会将甲减患者因肌无力合并 CK 升高误诊为多发性肌炎,而建议其检查血清甲状腺激素水平。从表 2 可以看出,经过临床有效治疗后,CK 水平有明显下降( $P<0.01$ )<sup>[7-8]</sup>。

Hcy 是甲硫氨酸代谢过程中产生的含硫氨基酸,是氨基酸半胱氨酸的异种,由肝细胞合成,在旁链部分硫醇基(-SH)前包含 1 个额外的亚甲基(-CH<sub>2</sub>-),因发现它是心脑血管发病的独立影响因素近年来受到广泛关注<sup>[9]</sup>。Hcy 在体内的代谢途径大致有两种,即再甲基化和转硫途径代谢过程。甲减患者因为疾病本身引起代谢减慢,同时还可引起体内蛋氨酸合成酶及胱硫醚 β 合成酶活性下降,从而导致 Hcy 在体内代谢减慢。另外,甲减患者胃酸分泌减少,肠道蠕动减弱,吸收功能障碍,

导致叶酸及维生素 B12 的吸收减少,使 Hcy 代谢受阻,从而引起体内含量增加<sup>[10]</sup>。从表 1 中可以看出,甲减患者 Hcy 水平明显高于正常对照组( $P<0.01$ )。而经过临床两个月有效治疗后,Hcy 水平明显下降,与治疗前差异有统计学意义( $P<0.01$ )<sup>[11]</sup>。

参考文献

[1] 刘颖,张力心,刘九惠.原发性甲状腺机能减退患者经甲状腺激素治疗前后血同型半胱氨酸水平的变化[J].中国实用医药,2010,5(17):95-96.

[2] 陈正顺,陈奕桦.14 例原发性甲减患者心肌酶和血脂增高的治疗与转归[J].中国地方病防治杂志,2007,22(2):151.

[3] 徐华,高燕燕,关建民.原发性甲减患者左旋甲状腺素治疗后血脂、心肌酶谱及体成分的变化[J].中华内分泌代谢杂志,2005,21(2):110-113.

[4] 余季文,晏莲英,汪红玲.原发性甲减患者应用左旋甲状腺素治疗后血脂、心肌酶谱的变化[J].临床医学,2006,26(1):13-14.

[5] 姜晖,刘殿新.左旋甲状腺素对亚临床甲减患者血脂的影响[J].中国误诊学杂,2006,6(7):1315.

[6] 邓雁北,陶玲玲,刘恒方.甲状腺机能减退性肌病激素替代治疗前后血清肌酶谱的变化[J].新乡医学院学报,2003,20(3):175-179.

[7] 罗岳登.甲状腺功能减退症合并血清肌酸激酶升高 17 例分析[J].现代实用医学,2008,20(3):181-182.

[8] 都建华.甲亢及甲减患者血清生化指标的改变及临床意义[J].邯郸医学高等专科学校学报,2001,14(6):495-496.

[9] 刘颖,张力心,刘九惠.原发性甲状腺机能减退患者经甲状腺激素治疗前后血同型半胱氨酸水平的变化[J].中国实用医药,2010,5(17):95-96.

[10] 李芳.亚甲减患者血清同型半胱氨酸与血脂的测定及临床意义[J].浙江实用医学,2009,14(5):366-367.

[11] 李朝,薛庆凡.心脑血管疾病患者血同型半胱氨酸水平研究[J].中国现代药物应用,2011,5(15):39-40.

(收稿日期:2012-08-08)

(上接第 2876 页)

[3] College of American Pathologists. Clinical Immunology Checklist [R]. Northfield:CAP,2006:1-21.

[4] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东.临床实验管理学[M].北京:中国医药科技出版社,2004:72-73.

[5] 朱红梅,肖文海,卓德祥.罗氏 MODULAR P800 全自动生化分析仪检测系统性能验证[J].检验医学与临床,2011,8(6):689-690.

[6] 杨兴萍.美国伯乐 D10 糖化血红蛋白分析仪的性能评价[J].检验医学与临床,2011,9(2):683.

[7] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.北京:东南大学出版社,2006:392-393.

[8] 赵建忠.生化分析仪精密度、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):1111-1114.

[9] 张莉,吴炯,郭玮,等.医学检验检测系统应用前的性能评价[J].检验医学,2006,21(6):560-561.

[10] 王治国.临床检验质量控制技术[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2008:102.

[11] 权宁刚,陈文娟,周琨.东芝 TBA-120FR 全自动生化分析仪检测系统性能证实[J].现代检验医学杂志,2007,22(5):108-109.

[12] 郭拥军,李大为,文江平,等.罗氏 Modular P-800 生化分析仪检测 6 种血清特种蛋白性能评价[J].国际检验医学杂志,2011,32(11):1220-1221.

(收稿日期:2012-06-19)