

• 检验仪器与试剂评价 •

全自动生化分析仪测定血清总胆汁酸分析性能评价

冯 倩, 邓德耀, 周林华, 陈 弟, 李增安, 支国华, 薛云松

(云南省第二人民医院检验科, 云南昆明 650021)

摘要:目的 对在日立 7600 全自动生化分析仪上用循环酶法检测总胆汁酸(TBA)的分析性能进行评价。方法 参考国际国内有关性能评价的文件和报道,结合临床工作实际,对全自动生化分析仪测定血清 TBA 的精密度、正确度、分析测量范围、分析干扰和生物参考区间 5 项分析性能进行验证和评价。结果 TBA 测定在 3 个不同浓度水平的批内和天间不精密度都小于厂家规定的不精密度要求;两个浓度定值质控品检测结果与靶值的相对偏倚均小于 5%;分析测量范围为 1.24~204.0 $\mu\text{mol/L}$,略宽于厂家给定的范围;生物参考区间验证结果均在试剂说明书的范围之内;结合胆红素、乳糜物、高浓度血红蛋白会对 TBA 检测产生影响,且干扰物浓度越高,影响越大。结论 日立全自动生化分析仪测定 TBA 的分析性能与厂家声明基本一致,可应用于临床,使用中要注意内源性干扰对检测结果的影响。

关键词:总胆汁酸; 全自动生化分析仪; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.06.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)06-0718-02

血清总胆汁酸(TBA)检测作为反映肝细胞损伤的一个敏感指标已在临床被广泛应用。近年来,随着研究的深入 TBA 在多种疾病的诊断、治疗及转归中的监测作用也有报道^[1-2]。目前,定量检测 TBA 的方法主要为在全自动生化分析仪上用酶循环法测定,该方法具有高敏感度、高特异性的优点,因此在临床应用普遍,但有关的性能评价报道较少。为了深入了解在全自动生化分析仪上检测 TBA 的性能,笔者参考美国临床实验室标准化委员会(CLSI)的相关文件、国内一些定量检测性能评价的报道以及试剂厂家的标准,在全自动生化分析仪上对试剂进行了性能评价。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 日立 7600 全自动生化分析仪。

1.1.2 试剂 (1)日本积水医疗株式会社 TBA 检测试剂(批号:805RCJ);(2)配套校准品(批号:814RBJ);(3)Bio-Rad 质控血清水平 2(批号 46452)和水平 3(批号 46453);(4)干扰材料(日本 Sysmex 公司),包括游离胆红素、结合胆红素、血红蛋白和乳糜物。

1.1.3 标本 所有受检者均隔夜空腹 8 h 以上抽血,3 500 r/min 离心 5 min,取血清检测,或留取血清标本置于 -20℃ 待检。

1.2 方法

1.2.1 精密度(precision)验证 用两个水平的质控品和患者新鲜混合血清按标本检验程序进行测定,在批内重复测定 20 次,以及每份样本每天测定 1 次,连续测定 20 d。分别计算批内及天间均值(\bar{x})、标准差(s)和变异系数(CV)。并判断是否小于厂家规定的性能标准。

1.2.2 正确度(accuracy)验证 依据参考文献[3-4],对厂家提供的定值质控品进行检测,检测结果与说明书提供的“靶值”和可接受范围进行对比,计算检测值与靶值的相对偏差(%),并判断是否小于厂家规定的性能标准,如果偏差低于厂商声明的偏差,则正确度验证成功。

1.2.3 分析干扰实验 采用 Sysmex 干扰检查试剂盒。空白液与新鲜混合血清按 1:9 比例制备各自干扰物的空白对照 A 液。将结合胆红素、血红蛋白、游离胆红素和乳糜物用蒸馏水

溶解,按 1:9 的比例分别加入相同的新鲜混合血清,制成不同的干扰物 B 液,制成后结合胆红素 B 液浓度为 20 mg/dL,血红蛋白 B 液 500 mg/dL,游离胆红素 B 液 21 mg/dL,乳糜物 B 液 3000 FTU。将 A 液与 B 液按照 10:0(空白管),8:2(1 号管),6:4(2 号管),4:6(3 号管),2:8(4 号管),0:10(5 号管)比例混合,制备成空白管及含不同干扰物浓度的 1~5 号管。对每一份样品进行两次 TBA 浓度测定,结果取平均值。计算影响度(F)=(含干扰物质标本检测值-无干扰物质标本(空白)检测值)/无干扰物质标本检测值 $\times 100\%$ ^[5]。F 绝对值大于 10%认为该浓度干扰物质对 TBA 检测有影响。

1.2.4 分析测量范围(analytical measurement range, AMR)验证 按参考文献[6-8],使用厂家提供的高值质控品(其值大于厂家给定的分析测量范围上限),用生理盐水稀释。稀释液(L)与高值样本(H)按照 10L+9L+1H,8 L+2 H,7L+3H,6L+4 H,5L+5 H,4 L+6 H,3 L+7H,2 L+8 H,1L+9 H,10H 的关系配制,形成系列浓度样品。每个浓度重复测定 2 次,以平均值为实测值,按照公式预期浓度=($C_L \times V_L + C_H \times V_H$)/($V_L + V_H$)计算预期值。将实测值与预期值作比较,确定 TBA 的分析测量范围。检测低限(LLD)的确定:LLD 为样品单次检测,可以达到的非空白检测响应量对应的分析物的量。按 99.7%的可信限,生理盐水在批内重复测定 10 次空白样品 $\bar{x} \pm 3s$ 所对应的 TBA 的量即为 LLD。

1.2.5 生物参考区间(biological reference interval)的验证 参考 CLSI C28-A2^[9]文件,选取健康体检者 20 例,年龄 20~56 岁,平均 36 岁。男女各一半。按照标准操作程序进行检测。对结果进行统计并与仪器说明书提供的参考区间进行比较,若 20 份标本的检测结果均在仪器说明书提供的参考区间内或仅有 2 个标本超出,则验证通过。否则,进行参考区间确立实验。

1.3 统计学处理 应用 SPSS11.5 统计软件进行数据分析。分析测量范围的验证中截距 a 与 0 的比较用 t 检验。

2 结果

2.1 不精密度验证结果 见表 1,批内 CV 均小于 5%,日间 CV 均小于 10%,达到厂家性能标准。

2.2 准确度验证结果 见表 2,相对偏差小于 10%,达到厂家性能标准。

2.3 抗干扰能力检测结果 不同浓度游离胆红素、结合胆红素、血红蛋白和乳糜物对 TBA 检测的干扰(F)结果见表 3, 结合胆红素、乳糜物、高浓度血红蛋白会对 TBA 检测产生影响, 且干扰物浓度越高, 影响越大。

表 1 日立 7600 全自动生化分析仪测定 TBA 的批内、天间不精密度结果($\mu\text{mol/L}$)

样品	批内不精密度			天间不精密度		
	\bar{x}	<i>s</i>	CV(%)	\bar{x}	<i>s</i>	CV(%)
质控 1	11.54	0.28	2.44	11.89	0.54	4.53
质控 2	12.30	0.38	2.88	13.46	0.49	3.68
混合血清	4.01	0.22	5.49	4.92	0.39	7.93

表 2 日立 7600 全自动生化分析仪测定 TBA 的偏差结果

批号	靶值 ($\mu\text{mol/L}$)	验证值 ($\mu\text{mol/L}$)	绝对偏差 ($\mu\text{mol/L}$)	相对偏差
0906238	25.0	24.3	0.7	2.8%
1103147	123.0	113.7	9.3	7.6%

表 3 不同浓度干扰物质对 TBA 检测的干扰

干扰物质	含不同干扰物浓度的血清测得的干扰误差(F)				
	F1%	F2%	F3%	F4%	F5%
游离胆红素	-9.1	-1.8	3.3	3.6	5.5
结合胆红素	0	10.4	10.4	14.2	16.7
血红蛋白	-9.3	-9.7	-8.9	5.4	19.6
乳糜物	9.8	15.9	17.6	21.6	29.4

2.4 分析测量范围验证结果 按 99.7%的可信限, 空白样品均值的 3*s* 为: $0.43+0.27\times 3=1.24\ \mu\text{mol/L}$, 所以本检测系统的 LLD 是 $1.24\ \mu\text{mol/L}$, 小与厂家给定的 LLD($2.0\ \mu\text{mol/L}$)。以实测值为 Y 轴、预期值为 X 轴, 将结果点在 X-Y 坐标图上, 计算回归方程: $Y=bX+a$ 。得到回归方程 $Y=0.986X+2.544$, $r=0.999$, 相关系数 $r\geq 0.975$, b 在 $0.97\sim 1.03$ 范围内, a 与 O 无统计学差异, 可判断 AMR 在实验已涉及浓度。结合本方法的 LLD, 本方法的线性为 $1.24\sim 204.0\ \mu\text{mol/L}$ 。

2.5 生物参考区间验证结果 20 份表面健康人血清 TBA 检测结果浓度在 $0\sim 9.8\ \mu\text{mol/L}$ 范围, 均在试剂说明书提供的参考范围小于 $10\ \mu\text{mol/L}$ 之内。

3 讨 论

循环酶法测定 TBA 是利用酶的底物特性, 放大靶物质的一种检测方法, 通过辅酶的循环反应, 微量胆汁酸被扩增, 测定生成的 Thio-NADH 的吸光度的变化量而求得总胆汁酸浓度。由于血清中 TBA 含量低, 不同检测系统对标本进行检测时, 常出现结果不一致的情况^[10], 所以各实验室评价所开展的 TBA 检测是否能达到厂家给定的分析性能要求就显得尤为重要。本文对日立 7600 全自动生化分析仪测定 TBA 的主要分析性能进行评价, 包括不精密度、不准确度、分析测量范围、分析干扰试验、生物参考区间来了解该系统的性能。

一个检测系统最基本的性能指标是精密度, 在本检测系

统, 高低值质控及患者混合血清的批内、日间变异都小于厂家声明的 CV 值。正确度的验证, 有关文件建议可以通过与参考方法比对或检测定值参考物(包括由参考方法或决定性方法定值的样本, 从能力比对试验获得的参考物, 厂家提供的正确度参考物或质控物, 室间质量评价样本、由第三方提供的已用一些不同方法定值的物质)来验证。TBA 检测, 与参考方法比对无法实现, 而且国内还未开展室间质量评价, 所以本实验使用厂家提供的定值质控品验证正确度, 结果达到厂家的性能要求。本检测系统分析测量范围为 $1.24\sim 204.0\ \mu\text{mol/L}$, 略宽于厂商给出的线性范围($2\sim 180\ \mu\text{mol/L}$)。20 份健康人标本血清浓度均在试剂说明书的参考区间小于 $10\ \mu\text{mol/L}$ 内, 验证厂家的声明。

分析干扰实验显示, 不同浓度结合胆红素、乳糜物和高浓度血红蛋白对 TBA 检测有影响, 且随着干扰物浓度增高影响加大。提示在使用本检测系统测定 TBA 时应特别注意由样本情况造成的干扰误差, 对脂血、黄疸、溶血的样本应采取重新抽血, 或采用高速离心、适当稀释等方法减少干扰误差的影响。同时应将样本情况告知临床医生, 以便医生在利用检验结果时做出正确的判断。

总之, 本文参考试剂厂家、CLSI 文件以及国内关于定量检测分析系统性能评价的相关报道, 评价了循环酶法在全自动生化分析仪上检测 TBA 的性能, 基本与厂家声明的性能一致, 该检测系统能够用于临床, 使用中要注意内源性干扰对检测结果的影响。

参考文献

[1] 彭珠芸, 俞丽丽, 郑英如, 等. 妊娠肝内胆汁淤积综合征相关新生儿肺损伤的危险因素分析[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(2): 134-136.

[2] 韩建华, 邱玲. 胆汁酸代谢的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(9): 824-825, 828.

[3] 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 142-167.

[4] 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.

[5] 孙虹, 牛华, 赵崇吉, 等. 胆红素、血红蛋白和乳糜微粒对生化检测结果的干扰评价[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(21): 2509-2512.

[6] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 153-159.

[7] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学文献技术出版社, 2008: 111-138.

[8] 张秀明, 庄俊华, 郑松柏, 等. 临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证与实验方法[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1293-1297.

[9] Horn PS, Pesce AJ. Effect of ethnicity on reference intervals[J]. Clin Chem, 2002, 48(10): 1802-1804.

[10] 林莉, 黄宪章, 庄俊华, 等. 不同检测系统测定总胆汁酸的比对试验[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(6): 484-486.