

种方法^[7]。ELISA 主要有以下缺点:无法定量,灵敏度低,由检测原理带来的前带现象无法解决,易传染,无法完成 HBV 感染的动态观察及对低水平人群容易造成漏检^[8]。TRFIA 法和免疫化学发光法(ICMA)测定 HBsAg,灵敏度高,可以定量,可以动态观察 HBV 感染,而且在抗 HBV 治疗过程中,检测 HBsAg 定量可反映抗病毒疗效^[9],所以这两种方法均逐渐得到推广应用。

检测系统的分析性能能够满足临床要求是医学实验室认可和“检验结果互认”的根本保证^[10-11]。目前,各实验室对不同检测系统或检测项目等进行了性能评价^[3-4,12-13]。检测低限是能测出样本中分析物的最小量,检测系统或方法对小于或等于检测低限的分析物量只能报告“无分析物检出”,因此检测低限实际上是能够将分析物于本地噪音及空白响应量区分的待检测物的最低浓度值^[12]。本实验结果显示,Chemclin 600 检测系统测定 HBsAg 的最低检测限为 0.4 ng/mL,与厂家试剂说明书上列出的检测低限(<1.0 ng/mL)吻合,说明仪器检测系统分析灵敏度稳定。功能灵敏度则是指在实际检测中能够测到的待测物的最低浓度值,是以日间重复 CV 为 20%时对应实验样品具有的浓度。它用于确定检测系统可报告的最低限值^[14],区分从有到无的分析能力,所以更有临床价值。对低浓度特别有意义的项目,确定其检测限对疾病的诊断或治疗监测有重要意义。本实验结果显示,Chemclin 600 检测系统测定 HBsAg 的功能灵敏度验证值为 1.0 ng/mL,与厂家试剂说明书标明的功能灵敏度(<1.2 ng/mL)吻合,说明仪器检测系统功能灵敏度稳定。

检测系统的灵敏度高反映了仪器性能的差别^[15],本实验结果说明了 Chemclin 600 化学发光自动免疫分析仪对 HBsAg 的分析灵敏度和功能灵敏度均较高,与厂商的资料一致,适合于临床实验室常规应用。

参考文献

- [1] Prontera C, Fortunato A, Storti S, et al. Evaluation of analytical performance of the Siemens ADVIA TnI ultra immunoassay[J]. Clin Chem, 2007, 53(9): 1722-1723.

• 检验仪器与试剂评价 •

- [2] 杨永业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 142-152.
- [3] 江凡, 张修发, 祝爱霞, 等. Beckman 化学发光检测系统促甲状腺素性能评价[J]. 国际医药卫生导报, 2008, 14(9): 80-83.
- [4] 杜彦丹, 孙刚, 孙辉, 等. Roche E210 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.
- [5] Lok As, McMahon BJ. Chronic hepatitis B; update 2009[J]. Hepatology, 2009, 50(3): 661-662.
- [6] 廖慧芳. 乙型肝炎病毒三种检测结果的临床分析[J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2009, 6(2): 56-57.
- [7] 陈佑明, 黄敬, 熊符, 等. 时间分辨荧光免疫分析法和免疫放射分析法检测 HBsAg 的对比分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2006, 13(1): 50-51.
- [8] 韦卉, 韦柳华. 测定低水平乙型肝炎病毒表面抗原的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(20): 191-192.
- [9] 卫清琪, 谢青. 血清乙型肝炎表面抗原定量在慢性乙型肝炎诊治中的临床应用和价值[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2011, 38(4): 257-261.
- [10] 秦晓光. “检查结果互认”和质量管理[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 132-135.
- [11] 李金明, 申子瑜. 正确认识临床实验室认可与提高检验质量之间的关系[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 136-139.
- [12] 郑沁, 黄亨建, 张国福, 等. Roche E170 检测系统检测促甲状腺激素(TSH)分析灵敏度的验证[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(3): 58-60.
- [13] 李飞, 王伟佳, 温冬梅, 等. 化学发光免疫法检测 B 型利钠肽的检测限值和灵敏度研究[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(18): 2185-2188.
- [14] 章晓鹰, 张珏. 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[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(9): 1115-1116.
- [15] 张亚松, 谢秋燕. HITACHI 7170, 7600 以及 ROCHE Cobas C501 全自动生化分析仪分析灵敏度的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 993-995.

(收稿日期: 2012-12-28)

BN II 特种蛋白仪测定 IgG、IgA 和 IgM 性能评价*

韩 静, 胡 梅, 杨桂花, 张 曼[△]

(首都医科大学附属北京世纪坛医院检验科, 北京 100038)

摘要:目的 对新引进的 BN II 特种蛋白仪开展的 IgG、IgA、IgM 三个项目进行精密度、正确度、线性、参考范围的性能验证, 与原有的 BNP 特种蛋白仪进行比较, 以验证其检测能力是否符合行业标准。方法 选定免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM 三个项目, 参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的仪器性能验证文件 EP15-A 进行精密度、正确度和仪器间比对分析; 参照 EP6-A 进行线性分析; 通过测定 20 例能够合理代表健康总体的样本对仪器给定的参考范围进行验证。结果 BN II 特种蛋白仪精密度、正确度均符合要求, 线性范围、参考区间均验证合格, 与 BNP 系统检测结果比对相关性能良好。结论 用 BN II 特种蛋白仪测定 IgG、IgA、IgM 三个项目各项性能验证指标均合格, 可用于临床标本检测。

关键词:性能评价; 免疫球蛋白; BN II 特种蛋白仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)10-1292-03

免疫球蛋白是一组具有抗体活性的蛋白质, 主要存在于生物体血液、组织液和外分泌液中, 是反映体液免疫状态的重要

* 基金项目: 国家高科技研究发展计划(“863”计划)资助项目(2011AA02A111); 首都卫生发展科研专项(2011-2008-02)。[△] 通讯作者, E-mail: mzhang99@yahoo.com。

指标,其检测常用于临床免疫缺陷病、类风湿性关节炎系统性红斑狼疮、代谢性疾病以及病毒感染等多种疾病的诊断和治疗^[1-3]。人类的免疫球蛋白分为五类,即 IgG、IgA、IgM、IgD 和 IgE,其中 IgD 和 IgE 含量很低,故临床多用 IgG、IgA、IgM 三项来评价疾病的状态^[4]。实验室原有一台西门子 BNP 特种蛋白检测仪,由于临床标本量的日益增加,新引进 BN II 特种蛋白检测仪。通常一个检测系统应用到临床之前实验室必须对其进行性能验证,最主要的性能指标包括精密度、正确度、检测线性范围以及参考范围是否符合当地人群^[5-7]。美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)发布的 EP15-A 文件用于检验方法简便的精密度、正确度评价和不同仪器间可比性分析^[8],EP6 文件用于线性范围评估^[9],C28-A2^[10] 文件用于参考范围的验证,笔者按照以上文件设计实验,对仪器的精密度、正确度、线性范围、参考区间进行验证。

1 材料与方法

1.1 标本来源 本院就诊患者的新鲜血清,无溶血、黄疸和脂血。

1.2 仪器与试剂 试验仪器为西门子 BN II 特种蛋白分析仪(免疫散射比浊法)及配套检测试剂(IgG 批号:153068,IgA:153169,IgM:153279)、多项校准品(批号:083693)和高、低值质控品(高值批号:084838A,低值:084738)。比较仪器为西门子 BNP 特种蛋白分析仪(免疫散射比浊法),所用的试剂、校准品和高低值质控品相同。

1.3 方法

1.3.1 精密度评价 精密度验证试验按照 CLSI 的 EP15-A 文件^[7]要求,使用配套中值、高值 2 个浓度质控品,用 BN II 仪器每天分析一批,2 个浓度每个浓度重复检测 4 次,连续检测 5 d。计算批内不精密度($s_{批内}$)及总不精密度,与厂家声明的标准差进行比较,若批内变异系数(CV%)小于厂家声明,则证实批内精密度与厂家声明一致;若计算的总精密度小于厂家声明,则核实总精密度与厂家声明一致,判定符合要求。如果计算的精密度大于厂家声明,则计算“验证值”,获得精密度厂家声明的上限,如果实验室检测的标准差低于这一验证值,则可证实厂家的声明。

1.3.2 正确度评价 使用参考物质正确度评价,正确度验证试验按照 CLSI 的 EP15-A^[7]文件要求,使用已知浓度(可报告范围中高和低的决定性浓度)的标准物质(与目前机器所用的标准品批号不一致)。用 BN II 仪器连续检测 5 d,每批进行 2 次重复。利用 10 次测量值计算均值、标准差和标准误,结合实验测量不确定度与指定的标准差(指定值的不确定度,由标准物质提供),通过 2 个方差相加后取合成方差的平方根,计算

95%置信区间,然后与靶值比较,如果靶值在置信区间内则认为实验数据可以证实真实度,否则不能够证实。

1.3.3 线性范围验证 依据 CLSI 的 EP6-A^[8]方案选择高值样本(H)、低值样本(L),浓度覆盖分析测量范围上、下限(IgG1.4~46 g/L,IgA0.25~8.0 g/L,IgM 0.2~6.4 g/L)。将 H 和 L 样本按照 1L、0.8L+0.2H、0.6L+0.4H、0.4L+0.6H、0.2L+0.8H、1H 各自配制混合,形成 6 个系列评价样本。在保证 BN II 仪器校准和质控状态良好情况下每个样本重复测定 4 次。以测量结果作为 Y 值,计算浓度为 X 值作 X-Y 坐标图。计算重复测量误差,小于误差目标,不精密度符合要求;对 6 个系列评价样本实验数据进行多项式回归分析处理,利用拟合的二次多项式系数 b2 和三次多项式模型系数 b2 和 b3 与 0 比较,均没有统计学差异时判断检测系统呈线性(一阶方程式)。具体判断标准是根据非线性回归系数是否具有统计学差异($P>0.05$)。

1.3.4 参考区间的验证 参照 NCCLS C28-A2^[9]中提供的方法,选择 20 例能够合理代表试验室选择的健康体检人员的标本,在保证仪器校准和质控状态良好情况下用 BN II 仪器随机测量。结果不超过 2 例的(或 10%)的观察值在原始报告的参考区间外,则可以接受;3 例以上超出界限,重新选择 20 个参考个体,结果不超过 2 例的(或 10%)的观察值在原始报告的参考区间外,则也可以接受。再次有 3 例及以上超过参考限,重新检查操作系统,如果操作没有问题,则认为该参考区间不适合于当地人群,需要重新建立参考区间。

1.3.5 仪器比对 使用患者样本真实度评价,按照 CLSI 的 EP15-A 文件^[7]要求,假定可比较方法的结果代表正确的结果,作为厂家偏倚声明的基础,由新的方法和可比较方法同时检测患者样本以确认新方法的性能。本室使用 20 份患者标本,其浓度水平覆盖方法的可报告范围,连续 4 d 时间,每天用试验仪器 BN II 和可比较仪器 BNP 在 4 h 内各检测 5 份样本。将 20 对检测数据进行配对 t 检验计算,确定方法之间的平均偏差以及差值的标准差,计算置信区和验证限,将观察的偏倚与厂家的声明进行比较。

2 结 果

2.1 精密度 精密度计算结果如表 1 所示,IgA 中值、IgM 高值质控品总 CV 分别是 2.44% 和 2.95%,小于厂家声明(3.10%和3.20%),故不需要计算验证值,可以直接证明精密度符合要求。其他质控品计算的总精密度大于厂家声明,进一步计算验证值,结果 $s_{总}$ 均小于验证值,故也证明实验室检测的精密度与厂家声明的一致,符合要求。

表 1 精密度验证结果

项目	浓度	测定均值	批内 CV%	总 CV%	$s_{总}$	厂家声明 CV%	验证值	判断	结论
IgG	中值	9.865	1.85	3.19	0.314	1.80	0.315	$s_{总}$ 小于验证值	符合
	高值	12.22	3.03	3.24	0.395	2.60	0.438	$s_{总}$ 小于验证值	符合
IgA	中值	0.8355	3.56	2.44	0.02	3.10	—	总 CV%小于厂家声明 CV%	符合
	高值	2.898	6.37	4.03	0.117	2.50	0.128	$s_{总}$ 小于验证值	符合
IgM	中值	0.9965	2.54	2.94	0.029	2.60	0.038	$s_{总}$ 小于验证值	符合
	高值	2.257	1.73	2.95	0.067	3.20	—	总 CV%小于厂家声明 CV%	符合

—:无数据。

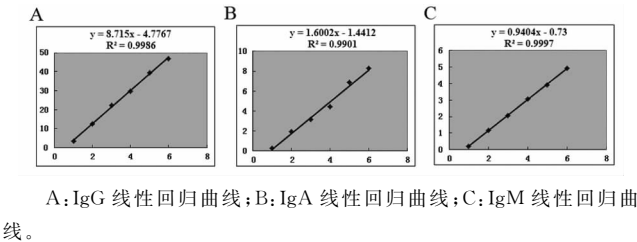
2.2 正确度 经检测、计算结果如表 2 所示,IgG 校准品的靶值 8.55 在验证限(检测结果的 95%可信区间)8.84 和 8.36 之间;IgA 校准品给定的靶值 2.03 在检测结果计算的验证限

1.93 和 2.19 之间;IgM 校准品给定靶值 0.678 在检测 10 次计算的验证限 0.59 至 0.84 范围内。故 IgG、IgA 和 IgM 三项的正确度可以验证。

表 2 正确度性能验证结果

项目	靶值	测定均值	上验证限	下验证限	结论
IgG	8.55	8.60	8.84	8.36	验证通过
IgA	2.03	2.06	2.19	1.93	验证通过
IgM	0.678	0.710	0.84	0.59	验证通过

2.3 线性评价 IgG 的二次多项式系数 b2 为-0.140 2,三次多项式模型系数 b2、b3 分别为 0.039 68、-0.017 1,与 0 比较均,差异无统计学意义($P>0.05$);IgA 的二次多项式系数 b2 为 0.064 20,三次多项式模型系数 b2、b3 分别为 0.033 09、0.002 96,与 0 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);IgG 二次多项式系数 b2 为 0.002 41,三次多项式模型系数 b2、b3 分别为-0.043 8、0.004 40,与 0 比较,差异无统计学意义($P>0.05$),故判断各以上三个项目检测系统均呈线性,见图 1。



A: IgG 线性回归曲线; B: IgA 线性回归曲线; C: IgM 线性回归曲线。

图 1 BN II 仪器线性验证

2.4 参考区间验证 厂家提供的 IgG、IgA 和 IgM 的参考区间分别为 7.0~16.0 g/L、0.7~4.0 g/L 和 0.4~2.3 g/L。通过检测 20 例实验室选择的健康参考个体得出 20 例标本 IgG 检测结果均在参考区间内,IgA 和 IgM 的检测结果各有 1 例的观察值在以上参考范围之外,没有超过 2 例,故可以使用厂家提供的参考范围。

2.5 仪器比对 仪器精密度符合要求的情况下,用 BNP 与 BN II 分别检测 20 例患者标本,见表 3。将 20 对检测数据进行配对计算,获得 IgG、IgA 和 IgM 方法之间的平均偏差分别是-0.439 5、-0.034 和-0.025,差值的 95%可信区间分别是-0.995 42至 0.116 422、-0.077 611 至 0.009 611 和-0.059 436 至 0.009 436。故厂家声明两台仪器间没有差异,故认为其偏倚为“0”,以上可信区间均包括“0”,置信限覆盖了厂家声明,可以证明 2 台仪器检测结果一致。

表 3 BNP 与 BN II 仪器比对结果

项目	差值的 均值	T 临 界值	差值的 标准差	验证上限	验证下限	验证 结果
IgG	-0.439 5	2.861	0.846 979	0.116 422	-0.995 42	通过
IgA	-0.034	2.861	0.066 443	0.009 611	-0.077 611	通过
IgM	-0.025	2.861	0.052 466	0.009 436	-0.059 436	通过

3 讨 论

随着检验技术的不断发展、项目的不断增加、仪器及试剂品种繁多,检验质量的控制变得越来越重要。为确保临床实验室检验结果的准确与可靠,《美国临床实验室改进法案修正案》(CLIA'88)和美国病理家学会(CAP)要求参加认可的实验室,在开展某一项新的检测项目、更换检测系统或仪器或改变检测

试剂盒厂商时,实验室需对其相关方法学分析性能予以验证,对厂商提供的评价资料中的主要性能予以确认。评价过程中应首先完成精密度实验,在重复性良好的情况下完成其他实验,否则评价缺乏基本保障。笔者参照 NCCLS EP15-A 文件的精密度评价方案,经过检测、计算 BN II 特种蛋白仪测定免疫球蛋白 IgG、IgA 和 IgM 无论在正常水平还是异常水平,其精密度均达到厂家声明性能。正确度方面用 2 种方法,第 1 种方法是使用参考物质正确度验证方案,在 5 d 内每批进行 2 次重复,然后计算均值和标准差,以及置信限,结果标定值在置信限范围内;第 2 种方法是使用患者样本方法,通过连续 4 d,每天用 BN II 特种蛋白仪和现有的仪器 BNP 各检测 5 份样本,获得 20 个数据,经统计学分析两个仪器差值没有统计学意义。因此,笔者认为新进的仪器检测的准确、可靠。按照 EP6-A 方案,采用多项式回归方法评价仪器的线性,结果非线性系数与 0 比较均没有统计学意义,故认为 BN II 特种蛋白仪测定免疫球蛋白 IgG、IgA 和 IgM 在给定的范围内呈线性。参考范围的验证结果显示检测 20 例能够合理代表健康总体的样本,没有 2 例超过厂家给定的参考范围,故认为可以使用厂家的参考范围。

BN II 特种蛋白仪厂家能为检测系统提供完整的性能参数,并且实验室使用配套的校准品和试剂,此时仅需验证厂家的声明。故在精密度和正确度验证方面笔者使用了 EP15 方案,它比 EP5 精密度方案、EP9A 正确度方案相对简单,易于实验室操作且能够满足统计学意义。经实验证明,BN II 特种蛋白仪检测免疫球蛋白 IgG、IgA 和 IgM 的性能符合厂家声明的性能参数,可用于临床标本检测。

参考文献

[1] 谭江宁,综述,韩玲. 免疫球蛋白免疫调节机制的研究进展[J]. 中国实用儿科杂志,2004,19(5):308-310.

[2] 刘雪茹,农光民. 原发性免疫缺陷病的诊断和治疗[J]. 中外医疗,2009,27(9):150-151.

[3] 陈霞,吴天学,周丽娟,等. 尿微量蛋白、免疫球蛋白及补体联合检测对系统性红斑狼疮早期肾损害的临床意义[J]. 实验与检验医学,2012,30(4):365-366.

[4] 荣素英,王茜,王广增. 免疫球蛋白分析的研究进展[J]. 理化检验:化学分册,2010,46(1):105-108.

[5] 冯仁丰. 临床检验质量控制技术基础[M]. 2 版. 上海:上海科学技术文献出版社,2007:130.

[6] 丛玉隆. 临床实验室管理[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:48-50.

[7] 魏昊,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] NCCLS. EP-15A User demonstration of performance for precision and accuracy; approved guideline[S]. NCCLS, Wayne, PA; 2001.

[9] NCCLS. EP6-A2. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach; approved guideline [S]. NCCLS, Wayne, PA; 2003.

[10] NCCLS. C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline-second edition[S]. NCCLS, Wayne, PA; 2000.