

2.4 样本针携带污染实验 样本针携带污染实验结果如下表 3 所示,经测定和计算,得出橘红 G 原液的吸光度为 198.56。根据公式计算出 5 次 Ki 值,如下表 3 所示,平均携带污染率为 0.002%,符合行业标准携带污染率不大于 0.5% 的要求。

表 3 样本针携带污染实验结果

次数	Ai4	Ai6	携带污染率(Ki)
1	0.002 6	0.001 3	0.004%
2	0.001 5	0.000 6	0.002%
3	0.001 1	0.001 9	-0.002%
4	0.002 1	0.001 6	0.001%
5	0.002 9	0.001 2	0.005%

2.4 临床项目的批内精密度 ALT、TP 和 UREA 3 个项目在 BS-200 上的批内精密度 CV 值分别为 3.56%、1.89% 和 1.21%,行业标准对 ALT 的批内精密度 CV 值要求分别为不大于 5%,对 TP 和 UREA 的 CV 要求均为不大于 2.5%。可见,测试结果达到行业标准的 yêu cầu。

3 讨论

根据我国 2006 年颁布的《医疗机构临床实验室管理办法》规定任何新的检验设备和检测方法在应用于临床前须进行精密度、携带污染、实验线性范围等指标的评估,达到要求以后才能应用于临床检测。2008 年我国国家食品与药品监督管理局发布《中华人民共和国医药行业标准-全自动生化分析仪 YY/T-0654-2008》,首次规范了全自动生化分析仪的行业标准。

BS-200 是深圳迈瑞生物医疗电子有限公司在 2006 年推出的一款中低端产品,主要面向我国农村基层医院以及城市社康中心等小型的医疗机构,该产品上市时,因为全自动生化分析仪的行业标准还没有制定,所以只能参考当时的半自动生化分析仪行业标准对仪器性能进行简单评估。

在本次试验中,我们选择了杂散光、吸光度准确度、线性试

• 检验仪器与试剂评价 •

验范围 3 个项目考察了 BS-200 的光学部件性能,其中杂散光的大小直接影响到仪器的灵敏度^[2],线性范围代表了 BS-200 最大可测试范围和对一些高值标本的测试能力^[3]。结果表明,3 个项目的测试结果均符合要求,其中杂散光吸光度的测试结果都大于 3.40,远远优于行业标准不小于 2.3 的要求。

仪器的携带污染,尤其是高值样本对低值或正常样本的污染经常会导致测试结果出现正偏差^[4],因此我们参考行业标准,选择了橘红 G 溶液作为污染源,检测其对蒸馏水的携带污染率,从而估仪器液路系统的清洗情况,结果显示携带污染率几乎比行业标准的 yêu cầu 还低一个数量级。

最后,笔者选择了 3 个常用的临床项目 ALT、TP 和 UREA,分别评估了仪器分析动力学法、终点法和固定时间法项目的性能,测试结果表明,3 个项目的批内精密度符合行业标准的 yêu cầu。

本次试验因为条件限制,行业标准中规定的一些项目没有进行测试,如吸光度的稳定性、重复性以及加样的准确度和重复性等,但是这几个项目可以通过临床项目精密度结果进行初步的判断。综合以上结果,笔者认为 BS-200 的性能达到国家行业标准的 yêu cầu 且能应用于临床检验科常见生化项目的分析。

参考文献

[1] 国家食品与药品监督管理局. YY0654-2008 中华人民共和国医药行业标准-全自动生化分析仪[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
 [2] 岑兆丰,李晓彤,朱启华. 光学系统杂散光分析[J]. 红外与激光工程,2007,36(3):300-304.
 [3] 韩鹏飞,蔡娟. 血清葡萄糖测定在不同试剂/样本比例下的线性实验[J]. 检验医学,2010,25(4):314-316.
 [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,2007:81-84.

(收稿日期:2013-02-01)

自制 G6PD 室内质控物稳定性及瓶间均一性评价*

袁咏梅,刘和录,何 亚,陈 望,许瑞娜,李 娴,王利军
 (广州医学院附属深圳沙井医院检验科 518104)

摘要:目的 研制出合适的红细胞 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)室内质控物,并评价其临床适用性。方法 收集临床标本制成 G6PD 室内质控物,分装后分别保存于 4℃, -20℃ 和 -80℃,分段检测其瓶间均一性及其在各保存温度下的稳定性。结果 自制 G6PD 室内质控物在各温度保存下的稳定天数:4℃(38 d), -20℃(>300 d), -80℃ (>365 d),瓶间均一性良好。结论 该质控物在 -20℃ 温度下保存可有大于 300 d 的稳定期,具备较好的瓶间均一性,可作室内质控监测的质控品,适于在各级医院应用。

关键词:自制质控物; 磷酸葡萄糖脱氢酶; 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.048

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)13-1733-03

当前很多实验室用的质控物多为国外产品,价格昂贵,质控项目不全,很多非常规生化项目市场上没有室内质控物,已不符合 GB/T20032302-T-361 的要求和不能满足临床实验室的需要。本实验通过自制 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PD)质控物,并检测其瓶间均一性和在不同保存温度下的稳定性,旨在

研究该自制质控品是否符合临床使用要求,可否作室内质控监测的质控品,有助于提高临床标本检验质量。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂 美国 BECKMAN DXC800 全自动生化分析仪,日本三洋 -86℃ 超低温冰箱, -20℃ 低温冰箱, 37℃ 水

* 基金项目:2012 年深圳市宝安区科技计划项目(2012135)。

浴箱,超速离心机。利德曼公司 G6PD 试剂、利德曼公司 CK 试剂由深圳市康迈特有限公司代理提供。复合酶稳定剂:SIGMA 公司生产,购自上海工研生物技术有限公司。小牛血清白蛋白:购自上海闪晶分子生物科技有限公司。叠氮钠:SIGMA 公司生产,购自广东万炬检验仪器有限公司。一次性塑料离心管:江苏康健医疗用品有限公司生产,规格为 0.5 mL。室内质控品:北京利德曼公司提供的定值质控品。

1.2 方法

1.2.1 质控物容器处理 将 0.5 mL 规格的一次性塑料离心管用 1% 的小牛血清白蛋白加满,置 4 ℃ 冰箱封闭 24 h 后,弃掉管内液体,置生物安全柜内自然凉干备用^[1]。

1.2.2 质控物的研制 G6PD 质控物的研制方法:(1)收集体检健康人员“O”型(HBSAG 阴性,HCV 抗体阴性,HIV、梅毒阴性,G6PD 不缺乏)EDTA-K₂ 抗凝血足量,离心后除去血浆留取红细胞。(2)用无菌生理盐水充分洗涤后置于 -20 ℃ 低温冰箱冻融一次使其溶血,按每 100 mL 加入 2、4、8 mL 的量加入 CK 试剂 R1,制成 3 种浓度的质控物。(3)按每 100 mL 加入 1 mL 的量加入 1.5% 浓度的戊二醛及酶稳定剂。(4)加入适量叠氮钠,充分混匀,吸取溶血液按样本检测,符合预期效果后按 50 μL 一支的规格分装(分装容器均已用小牛血清封闭过),密封胶封口。

1.2.3 质控物的赋值 在使用北京利德曼公司提供的定值质控品进行室内质控在控并保证仪器状态良好的情况下,每种质控物各取 20 支,各项目连续检测 2 次,每项目共获得 40 个数据,取这 40 个数据的平均值(\bar{x})作为预期靶值, $\bar{x} \pm 3s$ 作为可接受范围。

1.2.4 质控物的效能检测 同时用自制质控物和北京利德曼公司提供的定值质控品,连续进行 30 d。通过观测质控图和 Microsoft excel 提供的相关与回归程序来比较自制质控物的质控效果。

1.2.5 质控物的保存与稳定性检测 将配制的每种质控物分成 3 份,第 1 份为 100 管,第 2 份 300 管,第 3 份 300 管,分别保存于 4 ℃、-20 ℃、-80 ℃ 条件下备用。把制备的室内质控物作为样本,按保存温度从高到低的顺序,每天 1 次,上午 9:00 完成,严格按各种检测试剂的操作说明书进行操作和结果判断。结果判断依据:测定值超过 $\bar{x} \pm 3s$ 质控限,判断为失控。如质控结果一直在控,继续使用该温度保存条件下的质控物,直至用完为止,如期间出现失控,经失控原因分析确认为质控物变质失效后,启用下一温度保存条件下的质控物,以此类推,持续观察一年。

1.2.6 质控物的瓶间均一性检测 每个质控物分装后即随机抽取 10 管,每管重复测定两次取其均值,计算 CV% 值。各温度下保存的质控物从启用开始,每月检测一次,计算出每月 CV% 值与即刻 CV% 值比较。

1.3 统计学处理 以 $\bar{x} \pm s$ 表示,差异的显著性检验采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 质控物的赋值 连续检测 3 种 G6PD 质控物所得 40 个数据的平均值(\bar{x})标准差(*s*),分别为 2.68 ± 0.031, 4.97 ± 0.030, 9.99 ± 0.029 KU/L,可作为 G6PD 低,中,高浓度质控物监测相应检测系统。

2.2 质控物效能检测 通过连续一个月的对比,发现 3 种自制质控物和利德曼定值质控品 G6PD 测定值走势一致,即当利德曼定值质控品的质控图上扬时,自制质控物的质控图也上

扬;当利德曼定值质控品的质控图下降时,自制质控物的质控图也下降,经相关回归统计分发现,3 种自制质控物和利德曼定值质控品的 G6PD 的相关系数分别为 0.952 3, 0.959 5, 0.957 8,均呈显著性正相关。

2.3 质控物稳定性试验 持续观察一年,低、中、高值 3 种 G6PD 质控物稳定性试验结果见表 1。

表 1 低、中、高值 3 种质控物稳定天数(d)

温度	低值	中值	高值
4 ℃	32	40	43
-20 ℃	>300	>300	>300
-80 ℃	>365	>365	>365

2.4 质控物均一性试验 表 2。

表 2 低、中、高值 3 种质控物均一性试验(CV%)

时间	低值	中值	高值
即刻	6.32	6.15	6.04
2 月	6.30	6.12	6.02
3 月	6.44	6.17	6.07
4 月	6.49	6.22	6.12
5 月	6.48	6.25	6.14
6 月	6.55	6.27	6.22
7 月	6.62	6.32	6.27
8 月	6.66	6.37	6.23
9 月	6.69	6.34	6.32
10 月	6.72	6.42	6.34
11 月	6.70	6.49	6.39
12 月	6.72	6.45	6.31

3 讨论

G6PD 缺乏是诱发伯氨喹啉类药物性溶血、蚕豆病、新生儿病理性黄疸、某些感染性贫血的重要原因,在新生儿病理性黄疸中占较大的比例,可导致核黄疸及其后遗症——智力障碍甚至死亡^[2]。G6PD 缺乏症是华南地区较常见的遗传病,特别是广东、广西,发病率较高。在育龄夫妇中进行 G6PD 缺乏症的筛查,并及早采取措施,是减轻新生儿病理性黄疸发生率和核黄疸发生率的有效途径^[3]。

G6PD 的检测技术发展很快,从酶方法学来看,我国先后引进、改进和建立了一系列的检测方法,包括 MHB-RT、MHB-RT 微量组洗脱法、谷胱甘肽稳定性试验、荧光斑点法、硝基四氮唑蓝定性和定量法、快速分光光度法等^[4]。目前红细胞 G6PD 活性检测是诊断 G6PD 缺乏症的主要生化指标,而 G6PD 的室内质控是监控 G6PD 检测结果准确性的重要手段。室内质控物是实验室质量控制表达的载体,在室内质量控制中起非常重要的作用,所以室内质控物的选择应用也尤为重要。当前很多实验室用的质控物多为国外产品,价格昂贵, G6PD 作为一种酶类,在其制备、保存、流通过程中保持其稳定性具有一定的困难,这无疑增加了商品化 G6PD 质控物的成本,也给基层医院实现全面质量控制增加了难度。很多医院同仁为寻求解决方法,开始自配质控物。早在 2003 年,张淑琼等^[5]收集临床健康血清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。有文献报道自制质控物经一年应用,效果满意^[6]。有文献报道成功制备了 BV、OB、RV-Ag、HCG 定性试验的室内质控物后建立相应项目的室内质控程序,具备较好的实用价值^[7]。种种报道显示,实验室自制质控物是实现实验室全面质量控制,解决当前问题的可行办法。质控物制备的普

遍流程为:(1)查阅文献,设计配制方法。(2)选择合适的材质与添加物。(3)按设计方案配制质控物。(4)检测质控物效能。(5)分装保存。(6)检测其稳定性及均一性。(7)数据统计分析。(8)改良配方,重复(2)至(7)步。(9)确定质控物最终配制方法、分装量、保存方法及性能参数。实验室自配质控物最大的难度在于在一定时间内维持质控物的稳定与均一。而评价质控物质量的关键指标是稳定性^[8-9]。如何维持酶的稳定是此次研究的关键。本研究经过一年多的试验,利用临床标本作为基质,通过添加酶稳定剂、防腐剂、容器封管、低温保存等多种手段,研制的质控物经过一年的临床试用数据显示,其在-20℃、-80℃温度保存下具备较好的瓶间均一性,能在大于300d的时间保持稳定,符合临床使用要求,可作室内质控监测的质控品,有助于提高临床生化检验质量。-20℃冰箱各级医院实验室基本都有配制,该保存温度容易实现能适于各级医院开展。且该质控物具有与患者标本相同的基质,能够有效的避免基质效应,适合不同检测系统使用,具有推广应用价值和开发前景。

参考文献

[1] 刘和录,许瑞娜.5种定性试验质控物的研制与应用[J].国际检验

• 检验仪器与试剂评价 •

医学杂志,2012,5(3):589.
 [2] 杜传书,王菁.中国人中所见的六种葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的点突变[J].中华血液学杂志,1993,14(8):395.
 [3] 区丽群,崔金环.应用G6PD/6PGD比值法检测育龄夫妇6-磷酸葡萄糖脱氢酶[J].现代检验医学杂志,2004,4(7):31.
 [4] 杜传书.我国葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症研究40年的回顾和展望[J].中华血液学杂志,2000,4(4):174.
 [5] 张淑琼,杨映平.临床化学检验质控物的研制与应用[J].现代检验医学杂志,2003,2(1):34.
 [6] 董莉 张保平.化学发光仪质控物的研制及临床应用[J].国际检验医学杂志,2008,10(10):951.
 [7] 刘和录,许瑞娜.5种定性试验质控物的研制与应用[J].国际检验医学杂志,2012,5(3):589.
 [8] 黎卓华,李郑,王希平,等.自制类风湿因子质控品的应用及其质量的监控作用评价[J].国际检验医学杂志,2007,28(9):860-861.
 [9] 许华斌,李媛媛.血细胞质控品开封后的稳定性研究[J].国际检验医学杂志,2009,30(5):456-458.

(收稿日期:2013-01-02)

ACL-8000 血凝仪两种测定纤维蛋白原方法的比较

廖春婵,贾璋林

(广东省广州中医药大学附属南海妇产儿童医院检验科,广东广州 528200)

摘要:目的 两种方法测定纤维蛋白原(Fg),即 Von Clauss 法和 PT 演算法,比较两者差异性,探讨其临床应用。方法 ACL-8000 血凝仪的 Von Clauss 法和 PT 演算法分别检测不同纤维蛋白原含量的患者血浆。结果 当患者 Fg 含量在 2~4 g/L 之间时,两种方法的测定结果差异无统计学意义($P>0.05$)。当患者 Fg 含量大于 4 g/L 时,两种方法测定结果有显著差异($P<0.05$)。结论 患者 Fg 在 2~4 g/L 之间时,可以使用 PT-der 法替代 Von Clauss 法检测 Fg;患者 Fg 大于 4.00 g/L 时,不能用 PT-der 法替代 Von Clauss 法,PT 在大于或等于 48 s 时不能用演算法检测纤维蛋白原。

关键词:纤维蛋白原; 生物学鉴定法; 克劳斯塔法; PT 演算法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.049

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)13-1735-02

纤维蛋白原(Fibrinogen,Fg)是血浆中含量最高的一种凝血蛋白,由肝细胞和巨核细胞合成,是急性蛋白之一,同时也是血浆中最早分离出来的一种可溶性糖蛋白,在机体受伤或炎症时,其浓度成倍增高。正常血浆 Fg 浓度为 2~4 g/L。近年来流行病学和大量的文献表明,Fg 水平的变化不仅与凝血障碍、出血性疾病、弥漫性血管内凝血(DIC)、应激等有关,而且与冠心病(CHD)、心肌梗死(AMI)、脑血管病等有关,因而 Fg 研究倍受关注,对其测定的精度及临床应用范围提出了更高的要求。Fg 的测定方法较多,近年来随着全自动血凝分析仪在临床上的广泛应用,血凝仪具有的 Von Clauss 法和 PT-der 法已成为测定 Fg 最常用的两种方法。但不同厂家或相同厂家生产的不同型号的血凝仪的两种方法测定 Fg 的含量,报道有差异。本文主要研究比较 Von Clauss 法和 PT-der 法两种测定方法在 ACL-8000 血凝仪的差异性,以寻求一种比较适合临床常规测定的实验方法。

1 材料与方 法

1.1 样本 质控血清 Level 1,批号 V31051;Level 2,批号 596-801;Level 3,批号 V29415,均为 Thermo 公司生产。患者血浆采自日常门诊和住院患者。

1.2 仪器与试剂 BackmanCoulter 公司的 ACL-8000 全自动血凝分析仪。美国 Instrumentation Laboratory 公司生产的凝血酶原(PT)试剂,批号 N0599175。

1.3 方法 使用一次性专用管(0.2 mL 枸橼酸钠抗凝剂)抽取患者全血样本 1.8 mL,3 000 r/min 离心 5 min。在 2 h 内同时用 Von Clauss 法和 PT-der 法测定血浆 Fg。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件统计实验数据,组间比较采用 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Fg 的可报告范围及批内精密度的实验 分别用低值、正常值及高值质控血浆测定 Fg 含量数次,作批内精密度的实验,同时作均值与靶值的 *t* 检验,见表 1。从表 1 中可以得出,对于 level 1 和 level 2 两种质控血浆,Von Clauss 法和 PT 演算法两种方法的精密度的均较好,两者亦无显著差异。对于 level 3 质控血浆,Von Clauss 法测定值的变异系数 CV 增大,而 PT-der 法则无法测出 Fg 含量。测定 level 3 质控血浆时,测得 PT 在 48~53 s 之间,远远超出正常参考值范围,也超出了 Fg 演算曲线,故当 PT 大于 48 s 时,用 PT-der 法无法测出 Fg 含量。