

3 讨 论

3.1 实验中发现抗 HIV 试剂质控血清、Anti-HIV-1 型阳性对照和 Anti-HIV-2 型阳性对照板间变异均小于 10%, 但 Anti-HIV-2 型阳性对照的变异虽然明显大于质控血清和 Anti-HIV-1 型阳性对照的变异系数, 且 Anti-HIV-2 型阳性对照的 S/CO 明显低于 Anti-HIV-1 型阳性对照, 同时 OD 值有小于 0.8 的情况。A 厂家人类免疫缺陷病毒抗体诊断试剂盒说明书规定: 试剂空白标准 OD 值应小于或等于 0.05, 阴性对照标准 OD 值应小于或等于 0.12, Anti-HIV-1 型阳性对照 OD 值应大于或等于 0.8, Anti-HIV-2 型阳性对照 OD 值应大于或等于 0.8, 任意条件不满足则实验无效需重做实验, 《全国艾滋病检测技术规范》质量控制的要求明确规定当内部对照结果无效, 必须重新实验^[2]。实验中发现 A 厂家 Anti-HIV-2 型阳性对照浓度远远低于 Anti-HIV-1 型阳性对照, 但试剂说明书中实验的有效性判定标准两者使用的是同一标准, 导致在室内质控在控的情况下, 出现了 Anti-HIV-2 型阳性对照 OD 值小于 0.8, 实验无效的现象, 因此带来的重复实验使检测成本增高、检测时间延长和工作人员的劳动强度增加等等, 不利于血站的血液筛查工作。

3.2 与厂家工程师沟通得知 Anti-HIV-2 阳性对照血清是从国外进口再稀释的, 有可能因为考虑成本原因稀释比例过大,

• 检验仪器与试剂评价 •

应适当调整 Anti-HIV-2 型阳性对照有效范围或者提高 Anti-HIV-2 阳性对照浓度以保证血站实验室常规工作正常开展, 本站将意见反馈给厂家, 厂家进行了相应调整, 新批号未出现此现象。

3.3 依据《血站技术操作规程》(2012 版) 中血液检测试剂质量抽检结果要求, (1) 试剂盒对照品检测结果符合试剂说明书的要求; (2) 室内质控品检测结果符合既定要求; (3) 实验室自制或商品化血清盘符合既定要求。A 厂家该批试剂使用前经过我站质管科确认, 结果是合格的, 但抽样方法是从 105 盒试剂中随机抽取 1 盒试剂进行确认, 存在抽样风险, 不能体现出试剂的批内板间差异。所以检验科在日常工作中更应该善于发现、分析问题, 注重积累, 提出公正客观的试剂评价。

参考文献

- [1] 卫生部. 关于印发《血站技术损伤规程(2012 版)》的通知(卫医政发[2012]1 号)[R]. 北京: 卫生部. [2011-12-31].
- [2] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范[S]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2009.

(收稿日期: 2013-01-02)

STA-R 凝血分析仪检测 D-二聚体的性能验证

官燕飞, 彭建明, 刘树沅, 叶贵诚, 庄丑菊

(南方医科大学附属中山博爱医院检验科, 广东中山 528403)

摘 要: **目的** 验证 STA-R 凝血分析仪检测 D-二聚体的基本分析性能。 **方法** 参考相关文件和文献, 在 STA-R 凝血分析仪上进行血浆 D-二聚体的精密度、准确度、分析测量范围、临床可报告范围和生物参考区间的验证, 并与厂商声明的性能进行比较。 **结果** D-二聚体含量在 0.50、3.97 $\mu\text{g/mL}$ 时, 总不精密度分别为 13.68% 和 6.9%, 均在试剂说明书标示的不精密度范围($\leq 35\%$ 、 $\leq 10\%$) 内; 2 个定值质控品的测定结果分别为 0.25、2.70 $\mu\text{g/mL}$, 均在说明书标示的范围(0.00~0.50 $\mu\text{g/mL}$, 1.80~2.70 $\mu\text{g/mL}$) 内; 分析测量范围为 0.18~3.90 $\mu\text{g/mL}$ (厂商线性范围 0.20~4.00 $\mu\text{g/mL}$), 临床可报告范围为 0.18~20 $\mu\text{g/mL}$; 生物参考区间验证结果为 0.22~0.43 $\mu\text{g/mL}$ (厂商参考范围: $< 0.50 \mu\text{g/mL}$)。 **结论** STA-R 凝血分析仪检测 D-二聚体的主要分析性能与厂家声明的基本相符, 可用于临床检验分析。

关键词: 性能验证; 纤维蛋白纤维蛋白原降解物; STA-R 凝血分析仪

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.047

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)14-1875-03

根据 2003 年国际标准化组织发布的《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189), 及近年来医院等级评审细则中, 均要求临床实验室对相应检测系统或方法的分析性能进行评价, 这是保证检验质量的重要前提。CLIA'88 定义了检测系统性能评价的最低要求: 精密度、准确度、临床可报告范围和生物参考区间。对配套检测系统, 其分析性能已有大量文献证实。作为用户, 只需对上述 4 项基本性能进行验证。作者参考相关文件和文献^[1-3], 结合本科实际情况, 对 D-二聚体在 STA-R 凝血分析仪上的基本性能进行验证。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 法国 Diagno Stago 公司的 STA-R 凝血分析仪及 D-二聚体原装试剂、配套质控品。

1.2 验证方案和实验方法 在进行所有实验之前, 均按照操作说明书对仪器进行维护保养和有效的质量控制, 必须室内质

控在控后方可进行验证实验。

1.2.1 精密度验证方案 分别收集 D-二聚体低值和高值患者血浆标本, 混匀后分装成 5 份, -20°C 冷冻保存。按照 EP15-A 文件^[4], 每天各取一份高、低值混合血浆标本, 每个浓度重复测定 4 次, 连续 5 d。计算均值, $S_{\text{批内}}$, $S_{\text{总}}$, $CV_{\text{批内}}$, $CV_{\text{总}}$ 。

1.2.2 准确度验证 对原装配套定值质控品(STA-Liatest Control N+P)进行测定, 测定结果应在质控说明书标示的靶值范围内。

1.2.3 临床可报告范围

1.2.3.1 分析测量范围验证实验 收集低浓度(L)和高浓度(H)患者标本, H 和 L 按 5L、1H+4L、2H+3L、3H+2L、4H+1L、5H 的关系按比例配制, 形成系列浓度。每个浓度标本重复测定 2 次, 实验数据用多项式回归分析, SPSS13.0 统计软件处理, 验证 D-二聚体的分析测量范围。

1.2.3.2 稀释度验证 D-二聚体在 STA-R 凝血分析仪上只有两种固定稀释模式(4 倍和 5 倍)。选择 D-二聚体高值标本,用专用稀释液 OWENK 分别做 4 倍和 5 倍稀释,检测结果乘以稀释倍数后与原测定结果比较,计算回收率,回收率在 90%~110%为可接受。

1.2.4 生物参考区间验证实验 选择 20 份体检合格的健康成人标本,测定其 D-二聚体值,检测结果用“1/3”规则进行检验,并与试剂说明书提供的参考区间进行比较,若不超过 2 例标本超出参考值,则说明书提供的参考区间可以接受。

2 结 果

2.1 精密度验证结果 2 个浓度水平的精密度测定结果见表 1 和表 2。

表 1 D-二聚体精密度验证低值水平(μg/mL)					
次数	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
1	0.43	0.48	0.48	0.46	0.51
2	0.37	0.62	0.51	0.46	0.56
3	0.56	0.51	0.46	0.4	0.59
4	0.4	0.56	0.54	0.54	0.51

低值水平测定均值为 0.50 μg/mL, $S_{\text{批内}}$ 为 0.058, $S_{\text{总}}$ 为 0.068, $CV_{\text{批内}}$ 为 11.67%, $CV_{\text{总}}$ 为 13.68%。根据厂家声明, D-二聚体浓度在 0.20~1.00 μg/mL 的样本, $CV \leq 35\%$, 验证结果符合厂家要求。

表 2 D-二聚体精密度验证高值水平(μg/mL)					
次数	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
1	3.72	3.72	3.81	3.75	4.19
2	3.83	3.81	3.86	3.89	4.44
3	3.78	3.86	3.83	3.78	4.53
4	3.89	4.31	3.84	4.19	4.35

高值水平测定均值为 3.97 μg/mL, $S_{\text{批内}}$ 为 0.165, $S_{\text{总}}$ 为 0.068, $CV_{\text{批内}}$ 为 4.16%, $CV_{\text{总}}$ 为 6.9%。根据厂家声明, D-二聚体大于 1 μg/mL 的样本, $CV \leq 10\%$ 。验证结果均符合厂家要求。

2.2 准确度验证结果 对配套质控品 STA-Liatest Control N+P(批号:108760)进行测定,结果均在质控说明书的靶值范围。见表 3。

表 3 D-二聚体准确度验证结果(μg/mL)		
项目	N	P
测定值	0.25	2.07
靶值范围	0.00~0.50	1.80~2.70

2.3 临床可报告范围

2.3.1 分析测量范围验证结果 系列标本测定结果见表 4,用多项式回归分析,最适多项式为二次多项式($Y = -0.041X^2 + 1.023X - 0.808$),二次多项式预期值与一次多项式($Y = 0.738X - 0.428$)的预期值比较,线性偏离均小于允许总误差 10%,因而认为 D-二聚体在 0.18~3.90 μg/mL 范围内,为临床可接受线性。受标本制备条件所限,暂只能验证到

上限 3.90 μg/mL,但已接近 4.0 μg/mL。

表 4 AMR 系列浓度标本测定结果(μg/mL)						
测定次数	5L	1H+4L	2H+3L	3H+2L	4H+1L	5H
1	0.22	1.07	1.9	2.64	3.14	3.92
2	0.14	1.00	1.95	2.72	3.25	3.88

2.3.2 稀释度验证结果 4 倍稀释和 5 倍稀释的回收率分别为 105.3%和 99.5%,符合要求(90%~110%)。结合 AMR 的验证结果, D-二聚体的临床可报告范围为 0.18~20 μg/mL。D-二聚体浓度大于 20 μg/mL 时,直接报告大于 20 μg/mL。

2.4 生物参考区间验证结果 20 份健康成人标本的 D-二聚体测定结果在 0.22~0.43 μg/mL 之间,均在试剂说明书给出的参考范围($<0.50 \mu\text{g/mL}$)内。

3 讨 论

质量是检验的生命,而检测系统或方法的分析性能评价是临床检验质量管理的重要内容。ISO15189 和 CLIA'88 均要求医学实验室对检测系统的主要分析性能进行验证。本实验对 STA-R 凝血分析仪检测 D-二聚体的主要分析性能(精密度、准确度、临床可报告范围和生物参考区间)进行了验证。

精密度性能是检测系统的基本分析性能之一,也是其他方法学评价的基础。目前定量检测方法的精密度评价多数依据美国国家临床实验室标准化委员会颁布的 EP5-A2 文件。但其实验过程繁琐,测试量大,尤其是试剂成本高的项目,对医院及科室是不小的负担。其实对于配套系统,厂商在出厂前已经对其进行的全面系统的评价,作为用户,只需用最简便的方法对其进行验证即可。本实验依据 CLIS 颁布的 EP15-A 文件,每天分析 1 个批次,2 个浓度,每个浓度重复测定 4 次,连续 5 d,精密度实验一共 40 个测试,且实验周期也短,实用性更强。实验结果表明, D-二聚体在浓度为 0.50 μg/mL 和 3.97 μg/mL 时,总不精密度分别为 11.67%和 6.9%,均低于厂商声明的 35%和 10%。

准确度也是检测系统重要的分析性能之一。经查阅相关资料^[2],选择最适合本项目当前条件下的准确度评价方法,即检测配套定值质控品(溯源至 ISO05725),与质控说明书标示的靶值范围比较。STA-Liatest Control N+P(批号:108760)的测定结果分别为 0.25 μg/mL 和 2.07 μg/mL,均在质控说明书标示的靶值范围(0.00~0.50 μg/mL; 1.80~2.70 μg/mL)内。

临床可报告范围可以理解为分析测量范围和最大稀释度的结合。根据实验结果分析, D-二聚体的 AMR 为 0.18~3.90 μg/mL,接近上限 4.00 μg/mL,主要是受标本制备条件所限。D-二聚体在 STA-R 凝血分析仪上只有两种机内稀释模式。一种是当 D-二聚体用原倍测到结果大于 4.00 μg/mL 时,仪器自动将标本稀释 5 倍做;另一种是直接选择将标本稀释 4 倍做。结果显示,4 倍和 5 倍稀释实验的回收率分别为 105.3%和 99.5%,符合 90%~10%的要求。结合 AMR, D-二聚体在机内稀释模式下的临床可报告范围为 0.18~20 μg/mL,超出 20 μg/mL 的,直接报告浓度大于 20 μg/mL,因为 D-二聚体浓度大于 20 μg/mL 已经能满足临床诊断的需要。

对于参考区间的验证,厂商已经提供欧洲人群的参考区间,以往的研究和文献报道,并未提示 D-二聚体在不同人种和

地区间有明显差异。选择 20 个健康成人的样本进行验证,测定结果在 0.22~0.43 $\mu\text{g/mL}$ 之间,均在试剂说明书给出的参考范围($<0.50 \mu\text{g/mL}$)内。

综上所述,STA-R 凝血仪测定 D-二聚体的主要分析性能与厂家声明的性能基本一致,可用于临床检验分析。同时该套验证方案基本上是通过最小的努力实现的验证目标,对于成本昂贵的进口配套系统实用性强。

参考文献

[1] 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

• 检验仪器与试剂评价 •

血细胞分析仪测定血小板计数影响因素分析

周 莉,陈军政
(湖北省直属机关医院,湖北武汉 430071)

摘要:目的 探讨在血细胞分析仪中血小板计数(PLT)的影响因素。方法 采用 Ac. T 5diff 血细胞分析仪和手工计数法,测定 40 例健康体检者的静脉血和末梢血的血小板数量。结果 用仪器法在不同时间测静脉血的血小板计数差异有统计学意义($P<0.01$),在不同温度环境下测血小板数有差异($P<0.05$)。结论 EDTA- K_2 抗凝静脉血和末梢血都可检测血小板数量,但需要注意测定时间范围、环境温度是否混合均匀等问题。当血小板直方图异常时,应采取手工计数和推片观察来予以纠正。

关键词:血细胞分析仪; 血小板计数; 血小板直方图

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.048 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2013)14-1877-02

目前血细胞分析仪在各级医院广泛应用,具有检测简便、快速、重复性好、精度高的特点。但血细胞分析仪受自身检测原理的限制,其检测的结果受很多因素的影响,特别是血小板计数(PLT)是临床反映较多的问题,为此作者探讨了几种影响血小板计数结果的常见因素及纠正方法。

1 资料和方法

1.1 一般资料 本院体检中心健康体检者 40 例;男 23 例,女 17 例,年龄在 0.5~80 岁。

1.2 仪器与试剂 仪器 Ac. T 5diff 血细胞分析仪及配套试剂和质控品(美国 BECKMAN-COLUTE 公司生产);OLYMPUS 显微镜(日本);血细胞计数板(上海)。

献出版社,2007:85-170.
[2] 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,2009:98-253.
[3] 张秀明,庄俊华,郑松柏,等. 临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证方案与实验方法[J]. 中华检验医学杂志,2007. 30 (11):1293-1297.
[4] CLSI. EP15-A User demonstration of performance for precision and accuracy[S]. Wayne,PA:CLSI,2001:1-15.

(收稿日期:2013-01-22)

1.3 方法 静脉抽血 2 mL,用 EDTA- K_2 抗凝管,末梢采血 120 μL 用 EDTA- K_2 (0.15 mg)抗凝。仪器法按仪器操作说明操作,手工计数法按 WHO 推荐^[1],手工每份计数 3 次取平均值。

1.4 统计学处理 所有结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组资料的比较采用 t 检验。

2 结 果

2.1 40 份静脉血分别在即刻、10 min、1 h、2 h、4 h、8 h 用仪器和手工两种方法测定,其结果见表 1。

2.2 静脉血标本和末梢血标本用仪器在 2 h 内测定血小板数结果见表 2。

表 1 不同时间和方法测定血小板计数的结果($\times 10^9/\text{L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	即刻	10 min	1 h	2 h	4 h	8 h
仪器	40	123.1 $\pm$ 46.9	166.3 $\pm$ 45.5*	168.4 $\pm$ 46.7	168 $\pm$ 46.9	167.1 $\pm$ 47.2	134.5 $\pm$ 51.2 Δ
手工法	40	163.2 $\pm$ 44.3	165.2 $\pm$ 45.0	164.5 $\pm$ 45.5	164.9 $\pm$ 46.6	162.8 $\pm$ 46.8	148.8 $\pm$ 45.9**

*: $P<0.01$; **: $P<0.01$,与即刻测定比较; Δ : $P<0.01$,与 10 min 测定比较。

表 2 静脉血和末梢血测定结果($\times 10^9/\text{L}$, $\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	静脉血	末梢血
血小板数	40	168.1 $\pm$ 46.3*	160.3 $\pm$ 45.5*

*: $P>0.05$,与静脉血比较。

表 3 水浴前后测定结果($\times 10^9/\text{L}$, $\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	血小板计数
水浴前	40	168.1 $\pm$ 46.3
水浴后	40	193.8 $\pm$ 36.1*

*: $P<0.05$,与水浴前比。

2.3 对 40 份静脉血标本在日常工作温度和放置水浴 37 $^{\circ}\text{C}$, 10 min 后再测血小板数,结果见表 3。

3 讨 论

3.1 EDTA 在抑制 PLT 的黏附和聚集的同时,会使 PLT 形态由双凹形态变为球形,体积再增大约 20%,取完标本立即上机测试,血小板计数会偏低,如果放置 10 min 后,血小板计数便达到稳定,从表 1 可看出放置 10 min 至 4 h 内,其 PLT 结果无显著性差异,但随放置时间越长,血小板数逐渐减少,8 h 后出现显著减少($P<0.01$)。当工作气温低于 25 $^{\circ}\text{C}$ 时,冷凝集引起的 PLT 分布不均,会出现显著性减少($P<0.05$),此时应水浴保温 37 $^{\circ}\text{C}$ 充分混匀,必要时推片镜检。

3.2 血小板体积小、无色、易黏附,当血液自血管破损处流出