

- [2] 王梅,康红,李月,等.胶体金免疫层析法检测尿 HCG 的质量控制方法探讨[J].西部医学,2005,17(6):643.
- [3] 马丽国,徐兴伟.两种 β -HCG 检测方法的结果对比[J].中华临床医学研究杂志,2007,13(9):1249-1249.
- [4] 李莉,任林柱,逢大欣,等.抗人血清蛋白单克隆抗体的制备及其免疫金标试纸条的研制[J].中国卫生检验杂志,2007,17(11):2028.
- [5] 罗春丽.临床检验基础[M].北京:人民卫生出版社,2012:158-160.
- [6] 张新梅,张宏,章兆园.人绒毛膜促性腺激素测试条(胶体金免疫层析法)的性能评价[J].中国医疗器械信息,2008,14(4):19-22.

(收稿日期:2013-03-13)

• 检验仪器与试剂评价 •

ARCHITECT i2000SR 化学发光分析仪检测 胃泌素释放肽前体的性能评价

朱安友,王凤超,葛鑫,张伦军
(蚌埠医学院第一附属医院检验科,安徽蚌埠 233004)

摘要:目的 评价 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测胃泌素释放肽前体(ProGRP)的分析性能。方法 按照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)方法学评价系列文件,对 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测 ProGRP 的精密度、准确度、灵敏度、分析测量线性范围和分析抗干扰能力等指标进行评价,并与厂商声明的性能和有关质量标准进行比较。结果 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测 ProGRP 的批内 CV 和总 CV 分别为 2.83%~3.26%和 4.1%~5.16%,ProGRP 回收率为 97.44%~102.41%,功能灵敏度在 1.025 pg/mL 左右,分析测量线性范围 22.3~4 815.8 pg/mL,血红蛋白(2 g/L)、胆红素(400 mg/L)、乳糜(1670 FIU)对 ProGRP 检测无干扰。结论 ARCHITECT i2000SR 化学发光仪检测 ProGRP 的主要分析性能指标达到了厂商声明要求,能满足临床需要。

关键词:化学发光; 胃泌素释放肽前体; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.048 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)15-2018-03

国际标准化组织颁布的《医学实验室质量和能力的专用要求》(ISO15189)和我国《医疗机构临床实验室管理办法》都要求对检测系统及方法的分析性能进行有效性评价,证实其能够达到临床检测要求的标准。胃泌素释放肽前体(ProGRP)是小细胞肺癌(SCLC)一种新的肿瘤标志物,对 SCLC 早期诊断、疗效判断及预后分析等方面的价值,受到了临床的广泛关注^[1-2]。本研究根据美国临床实验室标准化委员会(CLSI)相关文件的要求,并结合本实验室实际,评价了 ARCHITECT i2000SR 化学发光分析仪检测 ProGRP 的分析性能,为保证检测结果达到临床要求提供依据,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 ARCHITECT i2000SR 全自动化学发光免疫分析仪(美国雅培公司)及其配套 ProGRP 检测试剂盒、标准品和质控品,试剂均在有效期内使用。

1.2 方 法

1.2.1 精密度评价 按照美国临床实验室标准化委员会(CLSI) EP5-A2^[3]评价方案,选择 ProGRP 高、中、低水平患者血浆标本各 1 份,分装 20 管,贮存于-40℃冰箱,每天各取 1 管,室温下融化,混匀后每天上、下午各测定 1 次,每个标本每次测定均作双份,每次测定做一个质控,连续测定 20 d,计算批内不精密度和总不精密度。

1.2.2 准确度评价 采用回收试验方法^[4],选择 ProGRP 低水平患者血浆标本 1 份(14.6 pb/mL),分别与 ARCHITECT 定标液 C(80 pg/mL)、D(320 pg/mL)、E(1 250 pg/mL)等量混合,使 ProGRP 水平为高、中、低 3 个浓度水平,每份检测 3 次,取均值计算回收率。

1.2.3 功能灵敏度评价 实验参照 CLSI EP17-A^[5]评价方

案,选择 ProGRP 低水平患者血浆标本 1 份(16.4 pg/mL)。将血浆标本用 ARCHITECT 定标液 A(0 pg/mL)作 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64 倍比稀释,每份标本每天测定一次,每次测定双份,连续 10 d,分别计算原倍血浆和各稀释度的相对光单位(RLU)平均值,标准差和变异系数,以 CV 具有或最接近于 20%所对应的检测限样品浓度值即为 ProGRP 功能灵敏度。

1.2.4 分析测量线性范围评价 实验按照 CLSI EP6-A2^[6]评价方案,分别收集 ProGRP 浓度水平接近厂商声明的分析测量范围下限和上限的低值样本(L,22.6 pg/mL)和高值样本(H,4 864.8 pg/mL),按照 6L+5L+1H、4L+2H、3L+3H、2L+4H、1L+5H 和 6H 不同比例混合,形成系列评价样本,每份重复测定 2 次。在重复测定不精密度符合实验要求的条件下,以两次测量的平均值为实测值和计算的预期值进行多项式回归分析,将所得数据拟合为一次($Y=b_1X+b_0$)、二次($Y=b_2X_2+b_1X+b_0$)和三次($Y=b_3X_3+b_2X_2+b_1X+b_0$)多项式,依据非线性系数 b_3 、 b_2 数与 0 之间差异是否具有统计学意义,判断实验所检测的浓度范围是否为线性。

1.2.5 干扰试验 根据 CLSI EP7-A2^[7]评价方案,收集 ProGRP 高、中、低 3 个浓度的血浆标本各 1 份,干扰物和空白对照为含有血红蛋白、直接胆红素和乳糜的日本 Sysmex 公司 A-Plus 干扰试剂盒。干扰物和空白对照干粉各用 2.0mL 蒸馏水复溶后分别作为干扰物贮存液和空白液。然后将贮存液和空白液以一定比例与上述血浆标本混合后,测试样本的干扰物终浓度分别为血红蛋白(2 g/L)、胆红素(400 mg/L)、乳糜(1 670 FIU),每份标本重复测定 3 次,计算干扰率。干扰率=(测试样本各组均值-相应对照样本均值)/对照样本均值×100%。

1.3 统计学处理 应用 Execel2003 统计软件和 SPSS19.0 统计软件进行数据分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密度评价结果 高、中、低水平 ProGRP 血浆标本测定的不精密度结果见表 1, ProGRP 水平在 25~5 000 pg/mL 范围, 厂商声明批内不精密度和总不精密度均小于 10%, 本实验 CV 值均小于厂商声明结果。

表 1 i2000SR 检测 ProGRP 的精密度试验结果

样本	均值 (pg/mL)	批内不精密度		总不精密度	
		标准差(pg/mL)	CV(%)	标准差(pg/mL)	CV(%)
低值	36.8	1.2	3.26	1.9	5.16
中值	268.2	7.6	2.83	12.4	4.62
高值	2 254.6	72.9	3.23	92.4	4.1

2.2 准确度评价结果 见表 2, 添加 3 个水平 ProGRP 的回收率分别为 97.44%、102.41%、98.25%, 均在 100±10% 范围, 符合该仪器的检测要求。

表 2 i2000SR 检测 ProGRP 回收试验结果

本身 ProGRP 水平 (pg/mL)	添加 ProGRP 水平 (pg/mL)	实测值 (pg/mL)	回收率
14.6	40	53.2	97.44%
14.6	160	178.8	102.41%
14.6	625	628.4	98.25%

2.3 功能灵敏度评价结果 按照厂商要求 CV 具有或最接近

于 20% 所对应的检测限样品具有的浓度值即为 ProGRP 的功能灵敏度, 由表 3 结果可以看出总 CV 最接近 20% 的 ProGRP 浓度预期值为 1.025 pg/mL。因此, ProGRP 检测的功能灵敏度应在 1.025 pg/mL 左右, 接近厂商声明的 0.89 pg/mL。

表 3 i2000SR 检测 ProGRP 功能灵敏度试验结果

稀释倍数	预期值 (pg/mL)	实测均值 (pg/mL)	实测均值 (RLUs)	标准差 (RLUs)	CV (%)
原倍	16.4	16.4	2 292	142	6.2
1:2	8.2	8.6	1 168	85	7.28
1:4	4.1	4.2	586	65	11.09
1:8	2.05	<3	292	52	17.81
1:16	1.025	<3	174	34	19.54
1:32	0.5125	<3	142	40	28.17
1:64	0.25625	<3	126	46	36.51

2.4 线性范围评价结果 7 个系列浓度水平样本 ProGRP 重复测定均值分别为 22.3、819.4、1 613.5、2 409.6、3 316.2、3 996.5 和 4 815.8 pg/mL, 计算 SDr=0.68%, 小于设定的允许误差目标 2%。以实测值为 Y, 预期值为 X, 进行多项式回归分析, 多项式系数 b2、b3 与 0 比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 为一次线性方程 $Y=0.993X+0.893$ 。

2.5 干扰试验结果 高浓度的血红蛋白, 胆红素和三酰甘油对 ProGRP 检测的干扰结果见表 4, 干扰率均小于厂家声明的允许误差±10%。

表 4 常见干扰物对 i2000SR 检测 ProGRP 检测结果的影响

标本	对照值(pg/mL)	血红蛋白(2 g/L)		胆红素(400 mg/L)		乳糜(1670 FIU)	
		实测均值(pg/mL)	平均干扰率	实测均值(pg/mL)	平均干扰率	实测均值(pg/mL)	平均干扰率
低值	26.4	27.8	5.3%	24.6	-7.56%	27.2	3.03%
中值	154.6	160.2	3.62%	144.8	-6.34%	162.4	5.05%
高值	2 820.5	2 756.2	-2.28%	2 894.7	2.27%	2 912.5	3.26%

3 讨 论

对检测系统或检测方法进行性能评价是临床检验质量管理的重要内容。精密度是反映检测系统整体性能的首要指标, 也是进行其他方法学验证实验的前提。ARCHITECT i2000SR 通过封闭的检测系统, 即所有检测项目的试剂和耗材均来自雅培公司, 为实验结果的高精密度提供了可靠保证^[8]。本实验参考 EP5-A2^[3] 文件, 用患者高、中、低水平 ProGRP 血浆标本作精密度验证, 结果表明 CV 值均小于厂商声明结果, 完全符合厂商声明要求。检测系统正确度评价一般可采用与参考方法比较、应用参考物质和回收实验等方式进行^[4]。本研究采用低水平 ProGRP 血浆标本中加入定值校准品回收实验方法, 验证结果显示回收率均在可接受范围内, 表明 ProGRP 检测准确度性能符合要求。

检测系统灵敏度评价包含分析灵敏度、最低检测限、生物检出限和功能灵敏度等诸多方面^[9], 本研究根据厂商声明 CV 具有或最接近于 20% 所对应的最低检测样品具有的浓度水平

即为 ProGRP 功能灵敏度, 结果显示 ProGRP 检测的功能灵敏度在 1.025 pg/mL 左右, 接近厂商声明的 0.89 pg/mL, 表明 i2000SR 检测 ProGRP 具有灵敏度高的特点。

线性范围是检测系统重要分析性能指标, EP6-A2^[6] 文件要求线性试验的多项式回归统计方法的统计功效与精密度有关, 要求检测系统要具有较高的检测精密度。本研究显示, 试验中样本重复性测定不精密度符合要求, 多项式回归分析为一次线性, 线性范围 22.3~4 793.8 pg/mL, 接近厂商声明的 25~5 000 pg/mL 范围。

本研究依据 CLSI EP7-A2^[7] 文件评价了常见干扰物血红蛋白、胆红素和乳糜对 ProGRP 检测结果的影响, 结果显示 2 g/L 的血红蛋白, 400 mg/L 的胆红素, 1 670 FIU 的乳糜不影响 ProGRP 检测, 说明该检测系统对临床常见的溶血、黄疸和脂血的抗干扰能力较强。

总之, ARCHITECT i2000SR 化学发光全自动分析仪检测 ProGRP 的主要分析性能验证结果与厂商声明的基本一致, 具

有精密度高,灵敏度好,结果准确和线性范围宽等优点,符合质量目标要求,能够为临床 SCLC 的早期诊断和疗效分析提供可靠依据。

参考文献

[1] 杨兴,孙桂荣,丛培珊,等. 胃泌素释放肽前体对小细胞肺癌的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(8):736-741.

[2] 陈永健,金卫东,杨广宇,等. 血浆胃泌素释放肽前体,细胞角蛋白 19 和癌胚抗原对各型肺肿瘤的诊断价值[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2011,25(5):381-383.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.

[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] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP17-A Protocols for

determination of limits of detection and of quantitation; approved guideline[S]. Wayne, PA: CLSI, 2004.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP7-A2 Interference testing in clinical chemistry [S]. Wayne, PA: CLSI, 2005.

[8] 孟补荣,张保平,宿瑞俊,雅培 ARCHITECT I2000 化学发光仪 CA125 的方法学性能评价[J]. 内蒙古医学院学报,2009,31(6):696-698.

[9] 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.

(收稿日期:2013-03-17)

• 检验仪器与试剂评价 •

自制血红蛋白电泳质控品临床应用的评价

袁明生¹, 李 程^{1,2}

(1. 广东医学院附属陈星海医院检验科, 广东中山 528415; 2. 广东医学院 2008 级检验系, 广东湛江 524023)

摘 要:目的 探讨自制血红蛋白电泳质控品在室内质控(IQC)中的应用价值。方法 采集健康人静脉血后,提取、纯化血红蛋白液,分装后-20℃保存作为室内质控品,采用 Hydrasys 全自动电泳系统进行检测,定值后,分析其精密度和稳定性。结果 -20℃分装保存7个月的自制血红蛋白电泳质控品冻溶后外观红色均匀,无浑浊及沉淀。自制质控品用于室内质控活动时,其均数±标准差为2.30%±0.07%,与第2、4、7月累积结果进行方差分析,差异无统计学意义($F=0.063, P>0.05$);批内不精密度为3.0%,批内天间不精密度3.1%(7个月),均小于商品化质控品的3.5%。经线性回归分析,自制质控品与商品化质控品质控效果呈正相关(相关系数为1)。结论 自制血红蛋白电泳室内质控品具有良好的稳定性和重复性,能满足室内质量控制的要求,可替代其商品化质控品。

关键词:血红蛋白电泳;室内质控品;自制;临床应用

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.049 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)15-2020-02

地中海贫血(Thalassemia)亦称珠蛋白合成障碍性贫血,是一组全球最常见、对人类健康影响极大的单基因遗传病,我国以长江以南发病率最高,是一种“可防难治”的遗传性疾病,因此,在育龄人群中开展地中海贫血筛查,预防重型地贫儿的出生,是行之有效的预防措施^[1]。但用于确诊地贫的基因检测由于操作繁琐、费用高、实验条件要求苛刻,使其难以广泛应用于临床,不能作为地贫诊断的首选,因此地贫的筛查就显得尤为重要,筛查的方法有 MCV 和血红蛋白(Hb)电泳等^[2-4]。为了保障血红蛋白电泳结果的准确性,室内质控是保证试验结果准确的重要措施,质控品则是进行室内质控的关键因素之一。目前商品自动化电泳系统配备有蛋白质电泳质控品,但价格昂贵、影响实际应用(尤其是基层医院)。本研究主要探索血红蛋白电泳室内质控品的制备方法,通过对自制质控品精密度、稳定性等参数进行分析,探讨自制血红蛋白电泳室内质控品临床应用的可行性。

1 材料与与方法

1.1 仪器与试剂 法国 Sebia 公司提供的 Hydrasys 全自动电泳系统及配套血红蛋白测定试剂盒,配套正常 Hb A2 质控品(批号:04041/01),Epson1640SU 扫描仪;上海康禾旋涡混合器 H-1;厦门星鲨制药有限公司提供的甘油;衡阳市凯信化

工试剂有限公司提供的甲苯。

1.2 方法

1.2.1 纯化血红蛋白的制备 采集健康人肘正中静脉血液 5.0 mL 于肝素抗凝剂真空管,充分混匀,4 000 r/min 离心 5 min,弃去血浆,留下红细胞,加 0.9% NaCl 溶液充分洗涤后离心,弃去上清液及血细胞比容上面由白细胞、血小板等形成的一层淡黄白色薄膜,留下红细胞,重复上述步骤,洗涤 3 次。加与红细胞等体积浓度为 60% 的甘油和 1/2 红细胞体积的甲苯,混合均匀后在旋涡混合器上振荡 20 min,置于 4℃冰箱过夜达大于 12 h。第 2 天取出后 4 000 r/min 离心 4 min,可见试管中分 3 层:上层为甲苯,中层为红细胞膜、类脂质碎片、甲苯混合物,下层为纯化血红蛋白液。用长针头插入试管底部,吸取底层纯化血红蛋白液立即进行分装保存。

1.2.2 分装与保存 用带盖的 0.5 mL 离心管立即对制备的血红蛋白液进行分装分装每管 25 μL,共 96 管,盖紧,外用封口胶封口(防脱水),储存于-20℃冰箱内。每次取一管质控品解冻平衡室温后使用,避免反复冻融。

1.2.3 自制质控品的制备和使用方法 纯化 Hb 室温平衡 15 min 后,吸取室温平衡后的 10 μL 质控品与 50 μL Sebia 配套溶血剂于洁净干燥的玻璃试管中,充分混合均匀,即自制的血