

示,在白细胞浓度为 $0 \sim 10 \times 10^6/\text{L}$ 时,其结果与流式细胞术计数结果差异有统计学意义,但仍有良好的相关性。分析其原因在于,体液模式白细胞计数的校准是建立在全血细胞计数模式校准的基础上,全血细胞计数的最低检测限是 $10 \times 10^6/\text{L}$,而体液模式计数的最低检测限是 $1 \times 10^6/\text{L}$,流式细胞术的计数更可精确到 $0.1 \times 10^6/\text{L}$ 。不同检测方法之间存在着不准确度的差异,从而导致低值白细胞计数结果在统计学上出现明显的差异。作为体液白细胞的正常参考区间,脑脊液白细胞为 $(8 \sim 10) \times 10^6/\text{L}$,胸腔积液有核细胞计数低于 $1\,000 \times 10^6/\text{L}$,腹水有核细胞计数低于 $300 \times 10^6/\text{L}$,本研究显示, Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪体液模式下白细胞的计数结果,已完全能满足临床工作中对体液标本检测结果准确性的要求。

参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜,等.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:312-319.
- [2] 陆进,金燕,吴元健. Sysmex XE-5000 血液分析仪检测非血液细胞的性能评价[J]. 临床检验杂志,2012,30(4):318.
- [3] 李辉军,田磊,舒学军. BC-5500 全自动血细胞分析仪与 UF-50 尿沉渣分析仪在脑脊液白细胞计数上的应用价值探讨[J]. 中华医学杂志,2008,32(1):29-32.

• 检验仪器与试剂评价 •

罗氏 Cobas E602 全自动电化学发光分析仪检测贫血指标的方法学性能验证

吴 敏,陈明艳,刘爱胜[△]

(深圳龙华新区人民医院检验科,广东深圳 518109)

摘 要:目的 验证 Cobas E602 全自动电化学发光免疫分析仪检测贫血指标的方法学性能。方法 按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)推荐的方法测定叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的精密度、正确度、线性范围、灵敏度、生物参考区间、携带污染率等,并进行验证。结果 Cobas E602 全自动电化学发光免疫分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的批内、日间精密度变异系数分别为 3.27%~4.72%和 3.65%~4.95%;高、低值校正品的检测结果与靶值的相对偏离(%)在-5.3%~4.2%之间;测量范围与厂家提供的测量范围相近;叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的测量数值与仪器厂家提供的参考区间符合率分别为 92.50%、90.70%及 93.20%;仪器检测的携带污染率为 0.02%~0.18%。结论 Cobas E602 全自动电化学发光免疫分析仪检测 叶酸、铁蛋白和 VitB₁₂的方法学性能良好。

关键词: 化学发光测定法; 叶酸; 铁蛋白; 维生素 B₁₂; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.061

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)23-3229-03

罗氏 Cobas E602 全自动电化学发光免疫分析仪(简称 Cobas E602 分析仪)主要用于肿瘤标志物、激素以及心肌损伤、贫血、传染病等 80 多种项目的检测,采用了当今国际上先进的电化学发光免疫分析技术,具有快速、简便、自动化程度高等特点。为保证检验质量,本科室以贫血指标叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂作为检测项目,从精密度、正确度、线性范围、灵敏度、生物参考区间及携带污染率等方面对 Cobas E602 分析仪进行了性能验证,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院符合贫血指标检测的门诊、住院送检标本 20 份,并按贫血指标检测的要求及时处理标本。纳入标准:腹部 B 超、X 线检查及肝、肾功能检测正常,乙型肝炎病毒表面抗原、抗丙型肝炎病毒抗体、抗梅毒螺旋体抗体和抗人类免疫缺陷病毒抗体均阴性;排除贫血相关性疾病、溶血性疾

- [4] 曹研,唐敏,牛华. UF-100 全自动尿沉渣分析仪在脑脊液白细胞检测中的应用[J]. 中国误诊学杂志,2008,8(12):2812-2813.
- [5] Dzik S, Moroff G, Dumont L. A multicenter study evaluating three methods for counting residual WBCs in WBC-reduced blood components: Nageotte hemocytometry, flow cytometry, and microfluorometry[J]. Transfusion, 2000, 40(5): 513-520.
- [6] Barclay R, Walker B, Allan R, et al. Flow cytometric determination of residual leucocytes in filter-depleted blood products: an evaluation of Becton-Dickinson's LeucoCOUNT system[J]. Transfus Sci, 1998, 19(4): 399-403.
- [7] Dijkstra-Tiekstra MJ, van der Meer PF, Pietersz RN, et al. Multicenter evaluation of two flow cytometric methods for counting low levels of white blood cells[J]. Transfusion, 2004, 44(9): 1319-1324.
- [8] 李丽,王明元,程根林,等. 流式细胞术在成分血残留白细胞检测中的应用[J]. 临床输血与检验, 2004, 6(3): 177-179.
- [9] Brando B, Barnett D, Janossy G, et al. Cytofluorometric methods for assessing absolute numbers of cell subsets in blood. European Working Group on Clinical Cell Analysis[J]. Cytometry, 2000, 42(6): 327-346.

(收稿日期:2013-06-06)

病、肿瘤以及肝、胆等病变所致疾病。

1.2 检测方法 按照 Cobas E602 分析仪使用指南对仪器进行系统维护保养,待常规室内质控在控后,严格按照仪器及试剂说明进行标本测定,并于检测过程中不定时地插入室内质控物进行检测质量监控,确保整个分析过程中仪器处于在控的良好状态。检测试剂、校准品及质控品为仪器原装配套。

1.3 精密度评价实验 批内精密度评价实验:参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)EP15-A 文件,选择罗氏公司生产的低浓度(TM1)和高浓度(TM2)质控品,连续重复测定 20 次,分别计算其平均值、标准偏差和变异系数(CV);日间精密度评价实验:选择 TM1 和 TM2 质控品,每天测定 1 次,连续测定 20 d,分别计算平均值、标准偏差和 CV。

1.4 准确度评价实验 用校准品校准检测系统,再对低值和高值的校准品进行检测,对各自检测结果与校准品的靶值进行

[△] 通讯作者, E-mail: curious1997@163.com。

比对,计算检测值与靶值的相对偏倚(%),计算公式:相对偏倚(%)=(测定值-靶值)/靶值×100%。

1.5 测量线性范围评价实验 按照参考文献^[1]和 CLSI EP6-A2 文件评价方案,选取高值血清样本(H)和低值血清样本(L)各一份,浓度接近仪器给定的测量线性范围,将 H 和 L 按 5H、4H+L、3H+2L、2H+3L、H+4L 及 5L 的比例混合成 6 个样品,每份样品重复测定 2 次,计算平均值。将实测值与理论值相比较,验证线性范围。

1.6 参考区间评价实验 按照 CLSI C28-A2 文件要求,将叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂检测结果进行统计并与仪器说明书提供的参考区间进行比较,20 个检测数据中只允许有一个数据在给定的生物参考区间之外。

1.7 携带污染率评价实验 先取 1 份高浓度标本连续测定 3 次,测定结果为 H1、H2、H3;再取 1 份低浓度标本连续测定 3 次,测定结果为 L1、L2、L3。按公式计算携带污染率。携带污染率(%)=(L1-L3)/(H3-L3)×100%。

1.8 灵敏度评价实验 分别取 6 份叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂校准液的空白液连续测定 6 次,取其平均值作为相应检测项目的灵敏度。

2 结 果

2.1 精密度评价 无论是批内还是日间精密度,叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂实测 CV 值均小于 5%,小于厂家说明书给定的允许范围,见表 1、2。

表 1 Cobas E602 分析仪检测贫血指标的批内精密度评价结果(n=20)

检测项目	TM1			TM2		
	平均值	标准偏差	CV(%)	平均值	标准偏差	CV(%)
叶酸(ng/mL)	25.74	0.91	3.27	102.62	4.02	3.57
铁蛋白(ng/mL)	61.35	1.72	4.11	189.43	4.80	4.06
VitB ₁₂ (pg/mL)	312.54	4.28	4.57	764.87	5.05	4.72

表 4 Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的线性范围评价结果

检测项目	5H		4H+L		3H+2L		2H+3L		H+4L		5L	
	实测值	理论值	实测值	理论值	实测值	理论值	实测值	理论值	实测值	理论值	实测值	理论值
叶酸(ng/mL)	198.54	200.00	162.37	160.00	121.63	120.00	79.34	80.00	40.62	40.00	0.22	0.20
铁蛋白(ng/mL)	1 006.20	1 000.00	797.29	800.00	597.78	600.00	403.45	400.00	201.97	200.00	0.19	0.20
VitB ₁₂ (pg/mL)	995.18	1 000.00	801.42	800.00	598.85	600.00	403.02	400.00	199.64	200.00	0.21	0.20

表 5 Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的携带污染率评价结果

检测项目	H1	H2	H3	L1	L2	L3	携带污染率(%)
叶酸(ng/mL)	154.86	155.39	154.35	18.27	17.93	18.09	0.13
铁蛋白(ng/mL)	198.27	197.82	199.03	26.49	26.94	26.18	0.18
VitB ₁₂ (pg/mL)	713.25	718.03	715.06	56.37	55.82	56.23	0.02

2.6 灵敏度评价 Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的灵敏度分别为 0.21 ng/mL、0.20 ng/mL、0.18 pg/mL,与 Cobas E602 分析仪厂家提供的灵敏度一致。

3 讨 论

Cobas E602 分析仪中免疫分析模块为异相免疫分析平

表 2 Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的批间精密度评价结果(n=20)

检测项目	TM1			TM2		
	平均值	标准偏差	CV(%)	平均值	标准偏差	CV(%)
叶酸(ng/mL)	25.16	0.85	3.65	103.56	4.23	4.29
铁蛋白(ng/mL)	62.15	1.57	4.52	187.82	4.97	4.64
VitB ₁₂ (pg/mL)	312.54	5.74	4.78	761.45	6.12	4.95

2.2 准确度评价 Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的高、低值校正品结果与靶值的相对偏倚(%)在-5.3%~4.2%之间,均在 Cobas E602 分析仪允许范围内,见表 3。

2.3 测量线性范围评价 叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂测量范围与厂家提供的测量范围相近,说明厂家提供的线性范围是可靠的,见表 4。

2.4 参考区间评价 叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的测量数值与仪器厂家提供的参考区间符合率分别为 92.50%、90.70%及 93.20%,均小于 95.00%。

2.5 携带污染率评价 Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的携带污染率范围为 0.02%~0.18%,见表 5。

表 3 Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂的准确度评价结果

检测项目	TM1			TM2		
	测定值	靶值	相对偏倚(%)	测定值	靶值	相对偏倚(%)
叶酸(ng/mL)	25.74	27.00	-4.70	102.62	100.00	2.60
铁蛋白(ng/mL)	61.35	60.00	2.30	189.43	200.00	-5.30
VitB ₁₂ (pg/mL)	312.54	300.00	4.20	764.87	800.00	-4.40

台,运用先进的电化学发光检测技术,具有正确度高、重复性好、线性范围广、孵育时间短、灵敏度高、检测范围宽及检测项目多的特点,分析项目超过 80 个,包括贫血指标、骨、肿瘤、甲状腺,心肌标志物、激素和传染病等项目,但是不同实验室的检测条件有很大差异,如工作人员操作习惯、水质、温度、湿度等。因此,每个实验室都有必要按各自的系统建立和验证方法学参数。叶酸、铁蛋白和 VitB₁₂是人体必需的营养物质,是合成 DNA 过程中的重要辅酶,体内不能自身合成。人体若摄入量不足或缺乏,会影响体内生化反应的进行,使 DNA 合成障碍,对人体会产生严重后果^[2]。因此,实验室确保为临床诊断提供科学、准确、可靠的检测数据具有重要的意义。本实验室通过对贫血指标-叶酸、铁蛋白和 VitB₁₂测定,对 Cobas E602 分析仪的分析性能进行了评价。

精密度是定量测定中最基本的性能指标,本室验证 Cobas E602 分析仪批内精密度 CV% 在 3.27%~4.72% 之间,日间精密度 CV% 在 3.65%~4.95% 之间,均小于厂家说明书给定的允许范围。说明该仪器在检测环境中系统重复性符合要求,精密度良好,能够满足临床检验的质量标准。

正确度是通过对定值的质控品或校准品进行测定并计算其偏倚(%),若测定结果在厂商规定的限值之内,正确度可被确认。按照 CLSI EP15-A 文件和国际标准化组织(ISO)15189 文件中对正确度的评价要求,可以通过比对定值的校正品来对系统的正确度进行验证。本实验室测定的高、低校正品检测结果与靶值的偏倚介于-5.30%~4.20% 之间,均在允许范围之内,表明该检测系统检测叶酸、铁蛋白和 VitB₁₂ 的正确度性能符合要求。

在确保使用原装配套试剂的前提下,本实验室验证的测量线性范围与厂家提供的线性范围相近,且都在厂家提供线性范围之内,这种差异并不明显。这可能与不同实验室的工作人员的操作、技术及环境等外部因素差异有关,这与黄志基等^[3]的研究相符。

罗氏配套试剂的说明书要求各实验室建立各自的参考范围。本研究严格按照 CLSI C28-A2 文件要求,在仪器在控状态下进行了叶酸、铁蛋白和 VitB₁₂ 正常生物参考区间的验证。Cobas E602 分析仪检测本地区健康人群血清叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂ 的含量在仪器厂家推荐的生物参考区间范围内的数据均小于 95.00%,不符合厂家要求,不可以直接引用厂家提供的参考区间作为其检测的参考区间。这可能是叶酸、铁蛋白及

(上接第 3216 页)

在日常工作中,对于室内质控,若出现失控,应及时采取纠正或纠正措施,撰写室内质控失控分析报告,每月月初进行上月的室内质控小结。对于室间质评,当每次接到卫生部成绩反馈时,进行及时的室间质量评价回报结果小结和(或)撰写室间质量评价不合格项目分析报告。但真正将室间质评与室内质控相结合进行关联分析的内容少,如此常会造成治标不治本的效果。6 σ 理论正好充当了一个很好的质量管理角色,它能把室内质控、室间质评及相关质量规范科学地结合起来。近些年来,国内关于 6 σ 质量管理理论的研究等有关内容报道已逐步展现^[1,5-7],但文献中关于数据采集的内容鲜见。在实际工作中,在进行 6 σ 质量管理时,常会遇到数据采集问题。在本科室,每年参加卫生部组织的 2 次血液分析室间质评活动,分别会于每年的 4 月底和 10 月底得到反馈成绩。另外,由于本科室所购买的血液分析室内质控品从到货开始计算效期最多约达半年左右,一般会在每年的 1 月和 7 月更换室内质控批号。因此,本文采用的 CV 分别为 1~4 月累积的常规变异和 7~10 月累积的常规变异。而采集的 Bias 分别为第 1 次室间质评的平均偏倚、第 2 次室间质评的平均偏倚(每次每个项目测定 5 个标本)和全年的平均偏倚(每个项目全年共测定 10 个标本)。本文中表 1、2、3 很详细地展示了公式 σ 值 = $(TEa\% - Bias\%) / CV\%$ 中,在 TEa 一定的情况下, σ 水平与 Bias、CV 的逻辑关系。其中表 3 才是实际工作中利用 6 σ 理论进行质量管理时所需采集的数据,意即当每一批次的室间质评成绩反馈时,需结合当下的常规变异来进行客观分析,及时发现问题,并

VitB₁₂ 的含量与各地区人群的饮食习惯、地理环境、水质及矿物质等因素有关。因此,Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白及 VitB₁₂ 时必须先建立各地区健康人群的正常生物参考区间,以免导致临床误诊或漏诊。

携带污染是该标本检测前、后受其他标本污染的情况。由于 Cobas E602 分析仪在加样和检测前,会自动冲洗加样针,且在测试过程使用了一次性吸头和反应杯,大大降低了发生携带污染的潜在风险。本实验室的验证结果表明,Cobas E602 分析仪检测 叶酸、铁蛋白和 VitB₁₂ 的携带污染率极低,符合仪器厂家要求,检验结果准确可靠。

综上所述,Cobas E602 分析仪检测叶酸、铁蛋白和 VitB₁₂ 的方法学性能良好,能为临床提供准确、可靠的检验结果,满足临床检测的性能要求,但各地区检测前,须先建立健康人群的正常生物参考区间,以便更科学地为临床服务。

参考文献

[1] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:96-108.
[2] 陈荣贵,刘爱胜,文艳,等. 孕妇血清中叶酸、维生素 B12 和铁蛋白水平的调查[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(6):672-673.
[3] 黄志基,黄铭颖,岑屹,等. 罗氏电化学发光检测系统检测泌乳素的方法学评价及参考范围建立[J]. 检验医学,2007,22(6):623-626.

(收稿日期:2013-09-23)

从精密度和准确度两方面着手提高检验质量。唯有这样,才能及时查找原因进行纠正,从而真正达到标本兼治的效果。

参考文献

[1] 王治国. 6 σ 质量标准在临床实验室质量控制的应用(I) [J]. 上海医学检验杂志,2002,17(2):125-127.
[2] Westgard JO, Westgard SA. The quality of laboratory testing Today: an assessment of sigma metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance[J]. Am J Clin Pathol, 2006, 125(3):343-354.
[3] Nevalainen D, Berte L, Kraft C, et al. Evaluating laboratory performance on quality indicators with the six sigma scale[J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(4):516-519.
[4] 王治国. 6 σ 质量标准在临床实验室质量控制的应用(II) [J]. 上海医学检验杂志,2002,17(3):189-190.
[5] 王治国,王薇,李少男. 临床化学检验项目的 σ 水平的计算及质控方法的选择[J]. 检验医学,2009,24(1):71-73.
[6] 蔡琳,崔涌泉. 6 σ 质量标准在 TMS-1024i 全自动生化分析仪上的应用[J]. 重庆医学,2011,40(32):3294-3295,3299.
[7] 谭晓霞,兰蔚蔚,徐晓红,等. 6 σ 理论在评价临床实验室血液分析各阶段性能及设计质控方案中的应用[J]. 检验医学,2012,27(1):63-66.

(收稿日期:2013-10-08)