

性的血糖监测显得非常重要<sup>[8]</sup>。POCT 血糖仪以其简便、快速、高效、灵活、样本量少等优点而被广泛应用在血糖的监测中,其发挥的作用也越来越大<sup>[9]</sup>。但是,许多因素均可导致 POCT 血糖仪监测结果的不可靠<sup>[10]</sup>,如大多数操作者没有进行过专业的培训,临床科室没有编写 POCT 血糖仪操作的标准化操作规程,也没有进行全程质量管理,没有参加室内或者室内质量评价,甚至会使用过期的试纸等。因此,评价并保证 POCT 血糖仪的准确性显得尤为重要。目前,用于评价和保证 POCT 血糖仪准确性的方法和措施主要有:各医院科室加强全程质量控制,有条件的情况下参加卫生部临检中心开展的室内质量评价等<sup>[11]</sup>,其中最有效最为各医院接受的评价及控制方法为每半年与检验科生化分析仪进行 1 次系统比对。

通过这次比对试验,得出的结论是:POCT 血糖仪的检测结果与生化分析仪检测结果的相关性好,检测结果的差异无统计学意义,其偏差均在 CLSI 对 POCT 血糖仪检测葡萄糖的比对判断标准要求的范围内,所以,雅安市人民医院各临床科室的 POCT 血糖仪在不同浓度水平下的检测结果的准确性均符合要求。同时,可以从检测数据中分析得出:同等条件下,用血浆测出的血糖浓度普遍高于用全血测出的血糖浓度。可能的原因是,血糖检测的方法不同导致的,生化分析仪是用的已糖激酶法,这种方法被认为是血糖测定的标准方法,血糖仪用的是氧化酶法,已糖激酶法的特异性在一定程度上优于氧化酶法。血糖仪测定全血内混杂有包括红细胞在内的诸多物质而血浆中不含红细胞,因此样本中的葡萄糖更为密集,也有可能导致生化分析仪测定的结果偏高<sup>[12]</sup>。从进一步分析中可以得到浓度水平越高偏差越大,所以建议如果 POCT 血糖仪测出的结果高于 15.0 mmol/L 需马上送标本到检验科复查血糖水平<sup>[13]</sup>。在本次试验中使用的样本为血浆和全血,这与实际情况下,使用血清和末梢血检测有一定的差别,因此,两种检测结果的差异和各自的影响因素还需要继续探讨。另外,在这次试验中,也存在许多不足。首先,为了保证整个测试在 2 h 内完成,只随机选取了 2 名护理人员进行操作,并不能代表整个护理人员的操作水平。其次,在实验中,只进行了 5 组不同浓度水平的检测,没有全面涵盖整个血糖浓度水平。这些存在的问题,将在以后的比对工作中进一步完善。

POCT 血糖仪在各大医院科室中应用得非常广泛,除定期比对和参加室内质评以外,还需要做好 POCT 血糖仪的日常

• 检验仪器与试剂评价 •

维护和保养工作,每日做好室内质控,如有失控,应及时查找原因并纠正,并按照校准要求,定期进行校准,制定好血糖仪操作的标准操作规程,以提高 POCT 血糖仪血糖检测的准确性和一致性,保障医疗质量和安全。

## 参考文献

- [1] 丁红香,徐晓杰,张美芬,等. POCT 血糖仪与生化分析仪血糖检测结果的比对试验及分析[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(12): 1374-1375.
- [2] 陈丽娟. 床旁检验血糖仪的评价及质量控制[J]. 临床和实验医学杂志,2011,10(3):198-199.
- [3] 关文锦. 血糖检测技术研究进展[J]. 右江医学,2009,37(6):737-739.
- [4] Barone PW, Strano MS. Single walled carbon nanotubes as reporters for the optical detection of glucose[J]. J Diabetes Sci Technol, 2009,3(2):242-252.
- [5] 毕小云,张莉萍. POCT 血糖仪使用现状调查分析[J]. 重庆医学, 2011,40(3):256-258.
- [6] 刘怡. 快速血糖检测值准确度影响因素的研究进展[J]. 中华现代护理杂志,2010,16(28):3461-3462.
- [7] 冯仁丰. 美国医院内非检验科进行葡萄糖 POCT 的管理要求介绍[J]. 上海医学检验杂志,1999,14(3):139-140.
- [8] 周健,贾伟平. 血糖稳定性的意义及临床评估[J]. 中华医学杂志, 2006,86(30):2154-2160.
- [9] 赵志芳,张炳峰,陈晓婷,等. POCT 血糖仪与全自动生化分析仪血糖检测结果的比对[J]. 江苏大学学报:医学版,2011,21(6): 485-487.
- [10] 池胜英,袁谦,陈筱菲. 医院内快速血糖检测质量管理的实施[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(6):565-566.
- [11] 丁红香,徐照杰,张美芬. POCT 血糖仪与生化分析仪器检测结果的比对试验及分析[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(12):1374-1375.
- [12] 郭金花. 便携式血糖仪监测值的影响因素及干预[J]. 临床医药实践,2009,18(9):695-696.
- [13] 李晞,陈智平,李若林,等. 69 台便携式血糖仪与全自动生化仪检测血糖结果比对分析[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(10): 1033-1035.

(收稿日期:2013-09-12)

# ARCHITECT I2000SR 化学发光仪甲胎蛋白残留试剂再利用性能评估

朱 波,沈 伟,黄家勤,严 莉,彭宇生,王 鹏

(宜宾市第一人民医院检验科,四川宜宾 644000)

**摘要:**目的 评估雅培 ARCHITECT I2000SR 化学发光仪甲胎蛋白(AFP)残留试剂再利用的性能。方法 回收合并残留试剂,评价其检测精密度和回收率,并依据 CLSI EP9-A2 文件方案,与原装试剂进行对比试验。结果 残留试剂检测 AFP 的批内精密度 CV 为 2.93%~3.71%,批间精密度 CV 为 3.46~4.87%,回收率为 96.15%~104.73%,均符合相关规定;2 种试剂检测 AFP 的相关系数  $r=0.997$ ,回归方程为  $Y=1.027X-0.503$ ,在各医学决定水平(Xc)的预期偏倚(Bc)在允许偏倚内,两方法相当,可以被接受。结论 雅培 ARCHITECT I2000SR 化学发光仪 AFP 残留试剂的性能符合临床要求,可以回收再利用。

**关键词:**甲胎蛋白; 残留; 试剂

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.065

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)24-3397-03

甲胎蛋白(AFP)是原发性肝癌(PHC)实验室诊断和判断预后的重要指标,也是当今体检筛查的必查项目之一<sup>[1]</sup>。雅培

(ABBOTT)公司 ARCHITECT I2000SR 全自动化学发光仪具有灵敏度高、线性范围宽、检测速度快及检测项目齐全等特点,

可以进行 AFP 检测。但该仪器使用试剂依赖原装进口,固定人份数、条码自动记录、价格昂贵。如何在保证检测质量的情况下降低成本,成为用户最为关心的问题。应用中,当仪器提示用完后,实际还有 15%~20% 的残留试剂,如若弃掉,势必是一种资源浪费。本文对 AFP 残留试剂的检测性能进行初步评估,以了解其是否可以回收再利用。

## 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 本院住院患者和门诊健康体检者,真空采血管抽取静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,无溶血、脂血,采集后 2 h 内完成 AFP 检测,剩余血清-20 ℃ 保存,以备重复测定。

**1.2 仪器与试剂** 美国 Abbot ARCHITECT I2000SR 全自动化学发光分析仪。原装试剂为由美国 Abbott 公司提供的配套试剂(批号 24147LF00);质控品由美国伯乐公司提供(批号:54541、54542、54543)。残留试剂:按常规操作用完的同一批号试剂盒(仪器显示 0 TEST),将瓶中剩余量的试剂每 3~4 瓶合并为 1 瓶。轻轻充分混匀,将气泡小心吸出。所有合并残留试剂保证在有效期内使用。

## 1.3 方法

**1.3.1 精密度试验** 批内精密度试验取低、中、高 3 种 AFP 浓度混合血清,分别于 1 d 内重复测定 20 次;批间精密度试验取低、中、高 3 种质控血清,每日每份血清测定 1 次,连续测定 20 d。计算各自的均值( $\bar{x}$ )、标准差( $s$ )和变异系数(CV)。

**1.3.2 回收试验** 制备混合血清,分别取 950  $\mu$ L,4 份,第 1 份加入 50  $\mu$ L 蒸馏水作为基础样品,其余分别加入 AFP 低、中、高浓度定值质控血清 50  $\mu$ L,使 4 份样品总体积均为 1 mL。执行 3 次重复检测,计算每份标本的平均值,与基础样品测定结果的差值为回收量。

**1.3.3 对比实验及偏倚评估** 依据 CLSI EP9-A2 文件方案,每天收集 8 份新鲜患者血清样品分别用原装试剂和残留试剂进行双份平行测定,测定顺序 1~8,8~1,共测试 5 d。同批样品在 2 h 内测定完毕。任何 1 批因为质控或操作困难而被拒绝,应在问题纠正后重测该批标本,并经检查无离群值。以原装试剂为比较方法,残留试剂作为实验方法,对检测结果进行对比分析和偏倚评估。其浓度选择按照文件中方法对比实验数据分布建议要求,控制在分析方法线性范围内,包括高、中、低值样本。残留试剂结果计为  $Y$  变量,原装试剂结果计为  $X$  变量。根据临床使用要求,依据给定的医学决定水平浓度( $X_c$ )及允许偏倚( $T \pm 20\%$ )计算残留试剂( $Y$ )与原装试剂( $X$ )之间的系统误差即预期偏倚( $B_c$ )及其 95% 可信区间<sup>[2-4]</sup>。

**1.4 统计学处理** 数据用 Excel 2003 和 SPSS19.0 统计软件进行处理,2 种试剂测定结果的比较分析采用相关回归线性分析。

## 2 结果

**2.1 AFP 残留试剂精密度试验结果** 批内检测低、中、高值质控品的结果分别为:(5.65  $\pm$  0.21)、(43.82  $\pm$  1.57)、(373.68  $\pm$  10.95)ng/mL;CV 分别为 3.71%、3.59%、2.93%。批间检测低、中、高值质控品的结果分别为:(11.06  $\pm$  0.54)、(81.34  $\pm$  2.82)、(210.93  $\pm$  9.13)ng/mL;CV 分别为 4.87%、3.46%、4.33%。

**2.2 AFP 残留试剂回收试验结果** AFP 残留试剂在加入低、中、高浓度定值血清时的回收率分别为 96.15%、103.78%、104.73%。

**2.3 对比实验及偏倚评估** 残留试剂和原装试剂检测 AFP 结果所作散点图,两试剂检测结果呈良好的线性相关,回归方

程为: $Y=1.027X-0.503(r=0.997)$ 。在低(10 ng/mL)、中(100 ng/mL)、高(400 ng/mL)3 个医学决定水平( $X_c$ )上,2 种试剂检测 AFP 的允许偏倚( $E_a$ )分别为 2、20、80 ng/mL,预期偏倚( $B_c$ )及其 95% 可信区间分别为 -0.233 ng/mL (-2.050 24~1.584 244 ng/mL)、2.197 ng/mL(0.772 172~3.621 828 ng/mL)、10.297 ng/mL(9.330 444~11.263 56 ng/mL)。可见,在  $X_c$  处的  $E_a$  均大于  $B_c$  95% 可信区间的上限,偏倚可以接受。

## 3 讨论

雅培 ARCHITECT I2000SRSR 化学发光分析仪的分析测定原理是吡啶脂在碱性环境中发光,通过测定发光量来检测测定物的含量,具有准确、快速、无污染等优点,是当今检验科在免疫定量检测这一领域使用最为广泛的仪器之一。但试剂为原装试剂,价格昂贵,每瓶提示用完时实际还有约 20% 的残留量。如若能很好的再利用残留试剂,将创造良好的经济效益。

回收再利用方法:(1)最简单的方法以工程师用户名登陆,在主屏幕下选择“Reagents”,再选择“Reagent History”,选中将要加入的残留试剂的相应项目信息,点“Delet”键删除。把残留试剂盒重新装载扫描后,仪器记录又恢复到“100 TEST”。另外可以将回收合并试剂直接放在另一台相同型号仪器上检测,仪器会默认为是 1 盒新试剂。但在回收合并过程中也有几点注意事项:(1)试剂报零后应及时取出,加盖放 2~6 ℃ 冰箱,以免液体蒸发,影响结果;(2)合并试剂时每试剂瓶内液体不能多于原装新试剂的 20%,否则将检测不出结果;(3)合并试剂时,每套试剂的各个试剂瓶之间是一一对应关系,千万不能放混,否则将报试剂错误,扫描不能通过。

AFP 是原发性肝癌实验室诊断和判断预后的重要指标,也是当今体检筛查的必查项目之一,是本实验室用量最大的检测试剂之一。AFP 残留试剂与原装试剂的检测过程和原理完全相同,因此本文没有进行全面的系统评价,仅从精密度、回收率和对比分析 3 个方面对残留试剂检测 AFP 的性能进行评估,采用澳大利亚室间质评标准作为临床判断标准( $T \pm 20\%$ )。对比分析和偏倚估计按照 CLSI EP9-A2 文件要求进行。EP9-A2 文件用患者标本进行方法对比和偏差评估,更接近临床标本的真实情况,评价结果真实可靠<sup>[5]</sup>。本研究所有检测均是在室内质控在控的前提下来进行的。本研究中批内、批间精密度 CV 均小于 5%,符合临床工作要求<sup>[6]</sup>。本文回收率分别为 96.15%、103.78%、104.73%,分别表明有 3.85%、6.22% 和 5.27% 的误差,均小于允许总误差( $T \pm 20\%$ )。以上 2 项试验说明残留试剂检测 AFP 有较好的重复性和准确性。方法比较试验所得的结果是配对资料,可进行配对  $t$  检验,经检验,也同样显示两试剂结果差异无统计学意义( $t=1.068$ ,  $P>0.05$ )。但  $t$  检验在临床对比研究中有时并不能很好地反映两方法间的相关性和一一对应关系,所以本研究选用在对比研究中更为普遍的相关和回归分析方法,因为此法可以计算出所研究浓度范围内任一浓度的系统误差。在回归方程  $Y=a+bX$  中,回归线的截距  $a$  代表恒定误差,回归系数(回归线的斜率) $b$  代表比例误差,还可以根据回归方程的  $a$ 、 $b$  值,计算出候选方法预期偏倚,并与不同医学决定水平( $X_c$ )的允许偏倚作比较,从而对评价方法的可接受性作出判断。本研究中,回归方程  $Y=1.027X-0.503$ ,斜率显示出的比例分析误差是 2.70%,截距为 0.503 ng/mL,  $r>0.975$ ,表明 AFP 比较试验研究的浓度范围很宽,数据是适合进行简单线性回归分析,且两试剂结果相关性良好。由此计算出各选定医学决定水平下的预期偏倚及可信区间,与允许偏倚比较得出残留试剂与原装

试剂检测结果相当,可以接受。这说明在检测的过程中,残留试剂与原装试剂具有可比性,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),不需重新校标,可直接用于患者标本的检测,结果准确可靠。

综上所述,雅培 ARCHITECT I2000SR 化学发光 AFP 残留试剂的回收再利用方法简便,结果的重复性和准确性均较好,与原装试剂的检测结果具有可比性,符合临床要求,可以使用。本文仅是以 AFP 为例,后面还将陆续对雅培 ARCHITECT I2000SR 化学发光其他残留试剂的利用进行评估,以期在保证检测结果准确的前提下,创造最大的经济效益。

## 参考文献

- [1] 何惠,刘基铎,廖冰洁,等. 甲胎球蛋白在不同检测系统中的可比性研究[J]. 按摩与康复医学,2011,56(7):12-13.
- [2] 黄婉姣,黄宪章,周强,等. 不同检测系统甲胎蛋白测定结果的可

比性研究[J]. 检验医学,2006,21(4):360-363.

- [3] 陈华,王明达,邹文武,等. 依据 NCCLS EP9-A2 对不同生化仪测定血糖结果的偏倚评估[J]. 医学临床研究,2009,26(6):1009-1011.
- [4] 张凤川,刘松坚. NCCLS 文件 EP9-A 在方法对比及偏差评估中的应用[J]. 解放军检验医学杂志,2002,1(2):174-175.
- [5] 王凤超,朱安友,葛鑫,等. AFP、CEA 在 2 种不同化学发光分析系统间的对比分析和偏倚评估[J]. 实用全科医学,2008,6(2):194-196.
- [6] 吴义芳,张震,周涛,等. 雅培 AXSYM 化学发光残留试剂检测癌胚抗原的初步评估[J]. 安徽医药,2010,14(12):1505-1507.

(收稿日期:2013-09-15)

## • 检验仪器与试剂评价 •

# 基于标准曲线的两台 PCR 仪检测结果的可比性分析

吕晓丽<sup>1</sup>,杨文青<sup>1</sup>,黄利思<sup>2</sup>,邹菊贤<sup>1</sup>,闫琳<sup>1</sup>,李锐成<sup>1</sup>,张惠中<sup>1△</sup>

(1. 第四军医大学唐都医院临床实验与检验科,陕西西安 710038;

2. 中山大学孙逸仙纪念医院检验科,广东广州 510120)

**摘要:**目的 分析同一实验室 2 台实时荧光定量 PCR 仪标准曲线相关参数的可比性。方法 常规条件下,使用同一批号试剂,将 HBV DNA 检测标准品与待测标本、室内质控在 2 台实时荧光定量 PCR 仪上同时进行扩增,比较标准曲线的斜率、截距及 Ct 值,分析检测结果的一致性。结果 作为单一检测系统,相同批号标准品在同一批号检测试剂的多批次实验中,2 台仪器均有良好重复性,2 台实时荧光定量 PCR 仪之间的测定结果差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 实验室存在多台实时荧光定量 PCR 仪时,可通过分析标准曲线的相关参数来监测不同仪器间检测结果的一致性,保证检测结果的准确可靠。

**关键词:**聚合酶链反应; 标准曲线; 比对

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.066

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)24-3399-02

随着分子生物学技术在检验医学的深入应用,多台 PCR 仪在同一实验室的使用情况越来越多。如何评估以保证 2 台仪器在测定结果上取得一致性是保证检测结果的准确可靠的重要依据,也是实现实验室标准化、规范化亟待解决的问题。为此,在常规条件下,将标准品与待测标本、室内质控在本室两台 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪上使用相同的开放试剂同时进行扩增,分析标准曲线的相关参数检测结果,进而监测不同仪器间检测结果的一致性,保证检测结果的准确可靠。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器与试剂** HBV DNA 荧光定量检测试剂盒为中山大学达安基因股份有限公司产品,批号为 2012004;标准品为试剂盒自带,批号为 20120905,含  $1.00 \times 10^4$ 、 $1.00 \times 10^5$ 、 $1.00 \times 10^6$ 、 $1.00 \times 10^7$  copy/mL 4 个浓度梯度;2 台实时荧光定量 PCR 仪均为美国 ABI 公司产品,型号分别为 ABI7500-7893,ABI7500-4854。

**1.2 方法** 严格依据试剂说明书提取样本 DNA,吸提取好的样本 DNA 和标准品各 2  $\mu$ L 加入 PCR 反应管(反应管内含除模板以外的其他 PCR 反应物),反应条件:93  $^{\circ}$ C 预变性 2 min;93  $^{\circ}$ C 变性 45 s,55  $^{\circ}$ C 1 min,10 个循环;93  $^{\circ}$ C 30 s,55  $^{\circ}$ C 45 s,30 个循环;55  $^{\circ}$ C 采集荧光。扩增结束后,点击 Amplification 按钮后在 2~7 循环进行基线调整。同一批号标准品用相同批号的试剂按照相同的方法检测,分析 30 次标准曲线相关参数检测结果(每次扩增  $r^2$  值均应大于 0.98,否则本次视为无效

检测)。

**1.3 统计学处理** SPSS16.0 计算标准品不同浓度梯度 Ct 值及标准曲线斜率、截距的全距, $\bar{x}$ , $s$ ,CV,评价单一检测系统的检测效果。对标准曲线相关参数的检测结果进行  $t$  检验,评价其检测结果的一致性,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 单一检测系统扩增曲线和标准曲线分析** 标准品在两台 PCR 扩增仪上的扩增结果(30 次连续检测中其中 1 次)如图 1a 和 b 所示(见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。在 Delta-Rn vs Cycle 图中,从右到左 4 条曲线代表浓度分别为  $1.00 \times 10^4$ 、 $1.00 \times 10^5$ 、 $1.00 \times 10^6$ 、 $1.00 \times 10^7$  copy/mL,可见 2 台仪器曲线均呈标准“S”型扩增,不同浓度 Ct 值分别为 11.45、14.77、18.15、21.54 和 11.36、14.69、18.07、21.56,曲线间间距均一;从 Standard Curve 图中可以看出,2 台仪器标准曲线斜率分别为-3.366、-3.420 均接近理论斜率, $r^2$  值均大于 0.98,因此此次扩增有效且扩增效率较高。

**2.2 2 台仪器标准曲线相关参数的结果分析** 标准品不同浓度梯度 Ct 值及标准曲线斜率、截距的全距, $\bar{x}$ , $s$ ,CV 如表 1 所示。从表中可以看出两台仪器的  $s$ ,CV 值均保持在较小范围内,ABI7500-7893 型不同浓度标准品检测结果的 CV 值均比 ABI 7500-4854 小,但不同梯度间的  $\Delta$ Ct 值 3.48、3.49、3.56 均一性不如 ABI7500-4854 型 3.38、3.35、3.39。统计学分析发现,浓度为  $1.00 \times 10^4$  copy/mL 的标准品 Ct 值检测结果在 2