

• 检验仪器与试剂评价 •

金标数码定量阅读仪 QPAD 的性能验证*

李保安¹, 范久波², 刘海菊^{3△}, 刘开琴², 程 瑾⁴, 李智山²

(1. 襄阳职业技术学院医学院, 湖北襄阳 441021; 湖北省襄阳市中心医院; 2. 医学检验部; 3. 眼科; 4. 药学部, 湖北襄阳 441021)

摘要:目的 评价金标数码定量阅读仪 QPAD 检测尿 HCG 的分析性能。方法 选取 48 个反应板分别连续在本仪器上读数 10 次, 验证仪器精密度; 14 份标本一天内分别重复检测 10 次, 计算批内的标准差(s)和变异系数(CV), 用于批内精密度验证; 选择 2 份样本每天早、晚各测 1 次, 连续 10 天, 计算批间精密度; 190 份标本用试剂条法和反应板法平行检测计算两者符合率, 选择高、中、低标本各 2 份在 QPAD 和 CI8200 上平行测定, 计算相对偏倚; 用含量为 5 810 mIU/mL 的标本进行倍比稀释, 确定仪器灵敏度, 且结果同 CI8200 进行回归分析; 观察混浊尿、血尿标本对检验结果的影响。结果 反应板连续读数 10 次, 结果显示平均 CV 为 1.1%; 批内试验平均 CV 为 6.23%, 其中 8 份标本 CV 在 4.60% 以下, 批间试验 CV 分别是 14.29%、15.36%。QPAD 和试剂条结果符合率 98.95%; QPAD 和 CI8200 相对偏倚为 -10.65% ~ -4.34%。标本稀释试验确定 QPAD 检测尿 HCG 的灵敏度为 21 mIU/mL; QPAD 和 CI8200 检测尿 HCG 相关系数为 $R^2=0.9767$ 。2 例花板, 尿标本经离心、过滤后重测, 结果为阴性, 背景清晰。结论 金标数码定量阅读仪 QPAD 的主要分析性能满足临床检验尿 HCG 检测有关技术要求, 可用于临床检验。

关键词: 化学发光测定法; 促性腺素类; 性能验证

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.02.043

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)02-0223-03

Performance verification for quantitative gold standard digital reading device QPAD

Li Baoan¹, Fan Jiubo², Liu Haiju^{3△}, Liu Kaiqin², Cheng Jin⁴, Li Zhishan²

(1. Medical College of Xiangyang Vocational and Technical College; 2. Department of Laboratory Medicine; 3. Department of Ophthalmology; 4. Department of Pharmacy, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang, Hubei 441021, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the analytical performance of quantitative gold standard digital reading device QPAD on detection of HCG in urine. **Methods** 48 reaction boards were selected to read 10 times continuously on QPAD respectively to verify instrument precision. 14 specimens were tested 10 times respectively within a day and the standard deviation and coefficient of variation CV were calculated as within-run precision validation. Two samples were detected twice per day in the morning and evening for 10 consecutive days so as to calculate between-run precision. 190 specimens were parallelly detected with the reagent strip method and reaction plate method and the coincidence rate was calculated. Each two samples of high, low, medium groups were collected and measured twice with QPAD and CI8200 respectively and the relative bias was calculated. One sample with the content of 5810 mIU/mL was diluted and measured to determine the instrument sensitivity, and the results was carried out regression analysis with CI8200. The effects of turbid urine and blood urine specimen on test results were observed. **Results** Consecutive readings 10 times of reaction board showed an average CV of 1.1%. The average CV of within-run precision was 6.23% with 8 specimens CV below 4.60% and the between-run precision was 14.29% and 15.36% respectively. The consistent rate of the reagent strip method and reaction plate method reached to 98.95% and the relative bias for QPAD and CI8200 was -10.65% - 4.34%. The sensitivity of detection HCG in urine was 21 mIU/mL determined by sample dilution test. The correlation coefficient of QPAD and CI8200 on detection of HCG was $R^2=0.9767$. 2 cases of reaction plate variegated, urine samples were retested after centrifugation and filtration, the results were negative with clear background. **Conclusion** The main analytical performance for quantitative gold standard digital reading device QPAD can meet the technical requirements related to clinical laboratory detection of HCG in urine, so QPAD could be used for clinical examination.

Key words: chemiluminescent measurements; gonadotropins; performance verification

金标数码定量阅读仪 QPAD(QPAD 为产品型号)可用于检测血、尿人绒毛膜促性腺激素(HCG)含量, 尿清蛋白, 超敏 C 反应蛋白和 D-二聚体等, 是 Uppergold U2 金标斑点法读数仪的升级版, 由上海奥普生物医药有限公司生产, 本科室主要用于尿 HCG 的检测, 根据 ISO15189 实验室认可要求, 参照定性

免疫测定的试剂性能评价方法^[1], 在产品临床应用前进行性能验证, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器 上海奥普生物医药有限公司金标数码定量阅读仪 QPAD, 序列号 E0306, 生产日期为 2012 年 4 月 19 日, 严格按

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81202539)。 作者简介: 李保安, 男, 讲师, 主要从事临床检验研究。 △ 通讯作者, E-mail: junya77@163.com。

仪器说明书进行操作(以下简称反应板法)。雅培公司 AR-CHETCET CI8200 生化免疫一体机,用于 HCG 的定量检测(以下简称化学发光法),按仪器作业说明书进行操作。

1.2 试剂 金标数码定量阅读仪配套试剂,试剂批为 20120502,其中反应板批号为 20120503,金标液批号为 20120502,封闭液批号为 20120326,复溶液批号为 20120328,洗涤液批号为 20120327,以上试剂在检测 2~8℃ 保存,检测时从冰箱取出,平衡 30 min 后用于标本检测。尿 HCG 胶体金法定性试剂条为上海荣盛生物药业有限公司产品,批号为 20120502,用于尿 HCG 定性(以下简称试剂条法)检测,按说明书进行操作。

1.3 标本 2012 年 8 月 28 日至 9 月 5 日本院门诊尿标本 190 份。

1.4 方法

1.4.1 仪器精密度试验 选取 48 份标本,其 HCG 含量范围涵盖高、中、低各个水平,反应完成后,反应板连续在金标数码定量阅读仪 QPAD 上读数 10 次,计算各自的变异系数(CV)。

1.4.2 精密度试验 批内试验是每天在完成室内质控的前提下,选择 14 个标本,包括高、中、低浓度,分别在一天内重复检测 10 次,计算各自的标准差(s)和 CV。批间试验是根据 EP5-A2 的要求,选择 2 个浓度实验样本(分别是 334 mIU/mL、3 381 mIU/mL),每天每个标本早、晚各测 1 次,连续 10 d,计算各自的 s 和 CV。

1.4.3 准确度试验 选择 190 份标本,试剂条法和反应板法同时检测进行定性验证,计算符合率,结果不一致时以化学发光法定量为准。参照参考文献[2],选择高、中、低标本各 2 份进行定量验证,CI8200 上机检测前先检测质控,质控在控后,上述标本各测定 2 次,取均值定为靶值,然后每个标本用反应板法检测 2 次,取均值计算检测值与靶值的相对偏倚(%),与可接受限进行比对。反应板法结果小于 25 mIU/mL 定为阴性。化学发光法参考范围为 0~2.9 mIU/mL,低于 2.9 mIU/mL 定为阴性。

1.4.4 灵敏度试验 参考文献[3],用已知浓度尿液标本(含量为 5 810 mIU/mL),用生理盐水进行倍比稀释(1:2、1:4、1:8、1:128)后,用反应板法检测。

1.4.5 方法学比较 依照参考文献[3],将 1.4.4 所准备的标本检测完成后用化学发光法进行 HCG 定量,对检测结果用统计软件进行数据分析。

1.4.6 干扰物质观察 观察 42 例混浊尿,8 例血尿常规过滤后检测,观察反应板有无花板现象及处理情况。

1.4.7 统计学处理 采用 SPSS 12.0 软件进行分析,阳性率的比较用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 仪器精密度试验结果 48 个反应板各测定 10 次,结果显示平均 CV 为 1.1%,CV 在 1.0% 以内有 33 份标本,1.0%~2.0% 之间有 8 份标本,>2.0%~3.0% 之间有 1 份标本,结果见图 1。

2.2 精密度试验结果 批内试验是取 14 份标本,分别在一天内重复检测 10 次,平均 CV 为 6.23%,其中 8 份标本 CV 在 4.60% 以下,结果见图 2。浓度为 334 mIU/mL 和 3 381 mIU/mL 的 2 个标本各测 10 d 后统计 CV 为批间精密度试验,CV 分别为 14.29% 和 15.36%。

2.3 准确度试验结果 试剂条和反应板法同时检测标本 190

份进行定性验证,其中阳性 83 份,阴性 107 份,两者相符 188 份,不相符 2 份,符合率 98.95%。统计学表明, χ^2 值为 192, $P=1.00$,两者差异无统计学意义($P>0.05$),2 例不符合的是试剂条为弱阳性,反应板检测分别为:<10 mIU/m 和 14 mIU/mL,即阴性;化学发光法定量分别为 23.78 mIU/m 和 31.74 mIU/mL。反应板法、化学发光法同时检测 6 份标本各 2 次进行定量验证,相对偏倚为-10.65%~4.34%,结果见表 1。

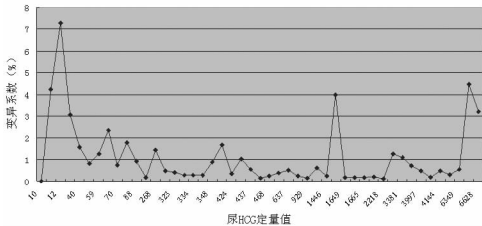


图 1 尿 HCG 定量重复性测试

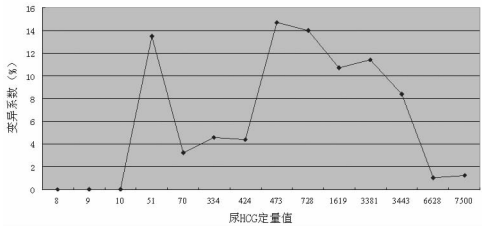


图 2 尿 HCG 定量精密度试验

表 1 反应板法准确度定量验证结果(mIU/mL)

序号	化学发光法	化学发光法	反应板法	反应板法	相对偏差
	第 1、次	第 2 次	第 1 次	第 2 次	
1	63	64	65	58	-3.14
2	338	341	328	323	-4.12
3	459	463	448	436	-4.12
4	776	790	845	789	4.34
5	3 940	3 910	3 585	3 489	-9.89
6	4 933	4 986	4 333	4 530	-10.65

2.4 灵敏度试验 含量为 5 810 mIU/mL 的尿准标本用生理盐水进行倍比稀释后反应板检测结果见表 2。检测的最低分析物浓度为检测系统的分析灵敏度或称检测限,本试验反应板法检测尿 HCG 的灵敏度为 21 mIU/mL。

表 2 反应板法灵敏度验证结果(mIU/mL)

原液	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
5810	2 265	950	458	206	96	40	21

2.5 方法学比较结果 化学发光法(X)与反应板法(Y)检测结果用统计软件进行数据直线回归分析,两种方法的相关性良好($r^2=0.9767$, $P<0.05$),见图 3。

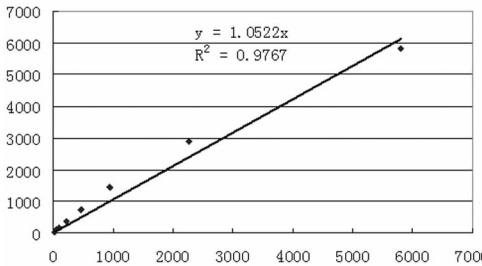
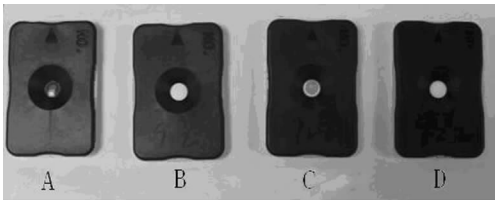


图 3 反应板法与化学发光法方法学比较

2.6 干扰物质观察 42 例混浊尿, 8 例血尿常规过滤后检测, 观察到反应板有 2 例出现花板情况(反应板检测孔呈深浅不一的红色背景), 立即将这 2 个标本 1 600 r/min 离心 5 min, 将上清液再次过滤后重测, 结果为阴性, 背景清晰, 见图 4。



A: 混浊尿离心前; B: 混浊尿离心后; C: 血尿离心前; D: 血尿离心后。

图 4 混浊尿、血尿离心前后反应板背景比较

3 讨 论

检测系统的分析性能必须满足临床要求, 也是 ISO15189 实验室认可和检验结果互认的根本保证^[4-5], 新仪器在正式临床使用前, 必须进行性能验证^[6-8]。金标数码定量阅读仪 QPAD 是经上海药品食品监督管理局批准的(2011 第 2400348)的检测系统, 可用于多个项目的即时检验, 本院于 2012 年 8 月引进到医院后对其检测尿 HCG 的主要分析性能进行了验证, 包括准确度、精密性、灵敏度及与化学发光法的方法学比较等。“金标准”是指能够溯源到标准物质的一种方法或一套材料满足或最接近检测的真实值的方法^[9]或临床诊断^[10], 本研究采用的金标准是化学发光法。

本院目前用的是第一代金标斑点法读数仪, 即 Uppergold U2, 在仪器使用一段时间之后, 发现同一检测反应板读数时误差较大。因此, 在新仪器验证时首先设计了反应板的仪器精密性试验, 结果显示大部分 CV 在 1.0% 左右, 证实光学系统比较稳定, 原因是生产厂家对产品进行了重新设计, 读数时, 反应板自动输送到仪器内部, 自动扫描, 不用再用手压住仪器探头, 避免了探头的损伤。

检测系统最主要的性能指标是精密性和准确度, 精密度的评价通常采用 CLIS EP5-A^[11], 但完全按标准用于金标数码定量阅读仪 QPAD 验证时, 成本极高, 本研究批内试验是用 14 份标本一天内重复检测 10 次, 平均 CV 为 6.23%, 最大的 CV 为 14.72%, 达到仪器规定的批内 CV≤20% 的设计要求。批间试验结果显示, 其 CV 完全符合仪器规定的批间 CV≤25% 的设计标准。

准确度验证通常采用 CLIS EP9-A 或 CLIS EP12A 文件^[12], 与参考系统或其他标准方法进行比对和倚偏评估, 检测值与真值越接近, 准确性越好, 本研究采用化学发光定量检测为参考方法, 采用高、中、低标本各 2 份标本, 每个标本用反应板法和金标准各检测 2 次, 取均值计算检测值与靶值的相对倚倚为 -10.65%~4.34%, 在仪器允许范围内。考虑到反应板法并非真正意义上的定量检测, 只是一台半定量的 POCT 设备, 故同时选择了 190 份标本先进行定性比较, 即用试剂条法和反应板法同时进行检测, 结果显示两者符合率 98.95%, 两者差异无统计学意义($P>0.05$)。

用已知浓度尿液标本用生理盐水进行倍比稀释后, 来检测反应板法的灵敏度, 其最低浓度(21 mIU/mL)为该法检测尿 HCG 的灵敏度。其实仪器说明书提供的最低检出限为 10 mIU/mL, 考虑到参考范围为 25 mIU/mL, 故未将标本作进一步稀释, 也是本研究的遗憾之处。

反应板法与金标准化学发光法检测结果相关性好($r^2 =$

0.976 7), 也间接证实了该仪器线性范围定为 25~5 000 mIU/mL 是合理的^[13]。

观察了 42 例混浊尿和 8 例血尿标本的检测情况, 发现有 2 例出现花板, 与正常的阳性结果反应板有明显差别, 正常的阳性是反应板中间呈红色实心圆形, 四周为清晰的白色背景, 根据以往经验, 花板如直接上机扫描会得出错误结果, 且说明书中已明确警示, 故将标本离心后将上清液再次过滤后重测, 结果为阴性, 背景清晰, 推测原因可能是滤液中有结晶或者少量红细胞影响所致。因此, 建议浑浊尿标本尤其是肉眼观非常明显的标本应常规离心后过滤可避免花板。

本文中将检测过的阳性标本和阴性标本做完后放置 4 h 内颜色稳定, 4 h 后阴性反应板出现红色块状背景, 厂家建议 5 min 内完成检测, 实际工作中放置数分钟再上机扫描不会影响检测结果。

总之, 本研究对金标数码定量阅读仪 QPAD 的主要分析性能满足临床检验尿 HCG 检测有关技术要求, 可用于临床检验, 但对实验中出现的 2 例试剂条检测为弱阳性, 反应板为阴性的情况应引起重视, 需要进一步研究确认是不是试剂批号改变或者是仪器的误差所致, 操作者尤其要注意凭肉眼观无颜色时也必须上机检测, 避免弱阳性标本误报告为假阴性, 另外生产商应确保反应板间反应区域位置相对一致, 减少因此导致的扫描误差。

参考文献

- [1] 张括, 王露楠. 定性免疫测定的试剂性能评价方法[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(9): 893-895.
- [2] 张秀明, 庄俊华, 郑松柏, 等. 临床化学发光免疫法检测 AFP 分析性能与实验方法[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 132-135.
- [3] 杨景瑞, 张润玲. 电化学发光免疫分析仪检测 β -HCG 的性能验证[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 30(8): 939-942.
- [4] 秦晓光. “检验结果互认”和质量管理[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 132-135.
- [5] 李鑫明, 申子瑜. 正确认识临床实验室认可与提高检验质量之间的关系[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 136-139.
- [6] 马升俊. Stago STA-R 全自动凝血仪性能验证与评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1): 91-93.
- [7] 陆捷, 吴士及, 殷波涛, 等. 雅培 i4000 化学发光分析仪肝标志物分析性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1): 93-95.
- [8] 陈浩全, 曾媛妮. 3 种肌钙蛋白 I 试剂在自动生化仪上的分析性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(20): 2541-2543.
- [9] Baud D, Regan L, Greub G. Comparison of five commercial serological tests for the detection of anti-Chlamydia trachomatis antibodies[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010, 29(6): 669-675.
- [10] Pok KY, Lai YL, Sng J, et al. Evaluation of nonstructural antigen assays for the diagnosis and surveillance of dengue in Singapore[J]. Vector Borne Zoonotic Dis, 2010, 10(10): 1009-1016.
- [11] Ricós C, Alvarez V, Cava F, et al. Current data bases on biological variation: pros, cons and progress[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2008, 60(7): 491-500.
- [12] NCCLS. User protocol for evaluation of qualitative test performance[M]. Approved Guideline EP12-A. USA: NCCLS, 2002.
- [13] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海科学技术文献出版社, 2003: 103.