

电化学发光检测乙肝血清学标志物相关试剂的性能验证

蔡望喜, 唐碧珺

(湖北省中医院免疫室, 湖北武汉 430061)

摘要:目的 对新购置的德国罗氏 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪乙肝试剂进行验证。方法 参照美国临床实验标准化协会(CLSI)的 EP15-A 标准,对乙肝试剂的最低检出限、线性范围、精密度和准确度(符合率)进行验证。结果 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪乙肝试剂的批内不精密度和总不精密度、HBsAb 线性范围、HBsAg 和 HBeAg 项目最低检出限均达到厂家声称的性能。结论 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪乙肝试剂的性能优异,能满足临床诊断与治疗的需要。

关键词: 电化学发光; 乙肝; 试剂; 质量控制; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)21-2955-02

Performance verification of electrochemical luminescence detection reagents of HBV serological markers

Cai Wangxi, Tang Bijun

(Laboratory of Immunology, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430061, China)

Abstract: **Objective** To verify the performance of HBV detection reagents for Roche MODULRA E170 electrochemical luminescence analyzer. **Methods** Referring to CLSI EP15-A document, the minimum detection limit, linear range, precision and accuracy of the HBV detection reagents were verified. **Results** The intra-assay coefficient of variation, total coefficient of variation, linear range of HBsAb, and minimum detection limits of HBsAg and HBeAg of the HBV detection reagents for MODULRA E170 electrochemical luminescence analyzer all reached the performance claimed by manufacturer. **Conclusion** The performance of HBV detection reagents for MODULRA E170 electrochemical luminescence analyzer is excellent, and it can meet the needs of clinical diagnosis and treatment.

Key words: electrochemical luminescence; hepatitis B; reagents; quality control; performance verification

根据 2008 年版《医学实验室质量与能力认可准则》的要求^[1],临床实验室在开展某一项目前,应提供并保留相关的方法学验证实验数据,对厂家提供的评价资料的主要性能予以确认^[2]。本文参照美国临床实验标准化协会(CLSI)的 EP15-A 标准^[3],对本科新购置的 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪配套乙肝试剂的主要性能,包括最低检出限、线性范围、准确度(符合率)、精密度进行了验证,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 德国罗氏 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪。

1.1.2 试剂及质控品 HBsAg 试剂(批号 170755)及配套定标液(批号 170755)、水平 1 质控品(批号 16738899)、水平 2 质控品(16738999)。HBsAb 试剂(批号 171165)及配套定标液(批号 171165)、水平 1 质控品(批号 16924799)、水平 2 质控品(批号 16924899)。HBeAg 试剂(批号 171080)及配套定标液(批号 171080)、水平 1 质控品(批号 16908199)、水平 2 质控品(批号 16908299)。HBeAb 试剂(批号 171200)及配套定标液(批号 171200)、水平 1 质控品(批号 16943399)、水平 2 质控品(批号 16943499)。HBeAb 试剂(批号 171973)及配套定标液(批号 171973)、水平 1 质控品(批号 16712899)、水平 2 质控品(批号 16712999)。以上产品均由德国罗氏诊断公司生产。

1.2 方法

1.2.1 精密度评估 按操作说明书对仪器进行维护保养、校准和质量控制,室内质控在控后,每天检测 2 个浓度水平的质

控品,连续 5 d,每天为 1 批,每批每个水平 3 次重复测定。测定结果的批内变异系数(CV)和总 CV 分别与厂家声称的批内 CV 和总 CV 比较,若实验室测定的 CV 比厂家声称的相应 CV 小,则认为验证试剂的 CV 达到厂家声称的 CV^[3]。

1.2.2 准确度(符合率)验证 对 2013 年 3 个批次 15 个不同水平的卫生部临床检验中心室间质评质控品进行测定,测定结果与卫生部临床检验中心室间质评结果比较,能力验证实验(PT)>80%,表示准确度(符合率)合格可以接受。

1.2.3 线性范围验证(适用于 HBsAb 定量项目) 选取 HBsAb 低值(2.77 IU/mL)及高值(984.35 IU/mL)血清标本各 1 份,分别标记为 L、H,标本选取时尽量靠近试剂说明书的线性范围上、下限值(试剂说明书的线性范围为 2~1 000 IU/mL)。按如下方式稀释高值血清:5L、3L+1H、2L+2H、1L+3H、5H,每份混合血清标本在仪器上平行检测 2 次,取均值,用于回归分析^[4],实验前确认仪器运转正常,质控在控,保留原始数据。结果判断按照 CLSI EP6-A 标准,斜率为 0.97~1.03 并且 $r^2 \geq 0.95$ 则认为线性通过验证^[4]。

1.2.4 检出限验证(适用于 HBsAg 和 HBeAg 项目) 将定值样品(本实验室采用的 HBsAg 定值品来自罗氏公司校准品 HBsAgII Cal 2 171592,0.5 IU/mL)与阴性样品(罗氏公司校准品 HBsAgII Cal 1 171592)进行不同比例稀释(稀释比例为 1:3,1:4,1:5……1:12,相对应的 HBsAg 浓度为 0.125 0、0.100 0、0.083 0、0.071 0、0.062 5、0.056 0、0.050 0、0.045 0、0.042 0、0.038 0 IU/mL)后进行检测,选取检测值略高于 cut-off 值(1.0 COI)的稀释浓度,再检测 20 次。HBeAg 定值样品

选用 HBeAg 校准品 Cal 2(3.5 IU/mL)与阴性校准品[罗氏 HBeAg Cal 1(0 IU/mL)]进行不同比例稀释(稀释比例为 1 : 6、1 : 7、1 : 8……1 : 15,相对应的 HBeAg 浓度为 0.500、0.438、0.389、0.350、0.318、0.292、0.269、0.250、0.233、0.219 IU/mL)后进行检测,选取检测值略高于 cut-off 值(1.0 COI)的稀释浓度,再检测 20 次。结果判断:如果检测 20 次的结果中,有 95%及以上为阳性,则说明其接近 cut-off 值(1.0 COI)的稀释浓度可作为测定下限,该测定下限值如低于 HBsAg 试剂说明书所示的 0.1 IU/mL 或低于 HBeAg 试剂说明书所示的 0.3 IU/mL,即为验证可接受。

2 结 果

2.1 不精密度结果 见表 1。

表 1 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪
乙肝项目的不精密度结果

项目	测定均值 (IU/mL)	批内 CV(%)		总 CV(%)	
		测定	厂家	测定	厂家
HBsAg 水平 1	0.560	6.09	8.50	5.47	11.20
HBsAg 水平 2	2.280	1.85	2.10	2.53	3.40
HBsAb 水平 1	6.586	2.38	5.00	5.40	10.00
HBsAb 水平 2	93.346	0.88	1.10	1.07	5.70
HBeAg 水平 1	0.078	4.67	6.40	6.46	10.20
HBeAg 水平 2	9.216	2.97	5.00	5.75	8.20
HBeAb 水平 1	1.522	2.16	4.10	1.97	4.10
HBeAb 水平 2	0.660	2.27	3.50	3.13	5.70
HBcAb 水平 1	2.230	1.12	1.20	1.04	4.70
HBcAb 水平 2	0.664	2.33	3.80	2.21	6.80

2.2 准确度(符合率)结果 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 项目在 2013 年卫生部 3 次室间质评活动中,PT 均为 100%,说明这 5 个指标检测的符合率符合要求。

2.3 线性范围结果 回归分析得到曲线方程为 $Y = 1.011\ 6X + 13.840(r^2 = 0.997\ 4)$,斜率在 0.97~1.03 并且 $r^2 \geq 0.95$,线性通过验证。

2.4 检出限结果 HBsAg 项目的临界值稀释比例为 1 : 12,验证检出限为 0.038 IU/mL,试剂盒标称灵敏度为低于 0.1 IU/mL;HBeAg 项目的临界值稀释比例为 1 : 15,验证检出限为 0.219 IU/mL,试剂盒标称灵敏度为低于 0.3 IU/mL,均可接受。

3 讨 论

检测系统进行主要性能评价,是检验质量的重要保证,也是医学实验室认可准则的要求。对于使用厂商提供的原检测系统(即封闭系统)进行检测的检验项目,由于厂商能够提供详细性能资料,实验室在使用这样的系统前,只需做基本的性能验证,即精密度验证实验、准确度(符合率)验证实验、线性范围验证试验和检出限验证实验^[5-7]。上述性能指标达到厂家所声称的范围,即为验证合格。

对于精密度的验证,目前国内主要参考 CLSI EP6-A 标准^[8],该标准相对较复杂,主要适用于制造商对仪器性能的建立、确认和核实,而实验室在使用原检测系统前只需证明检测系统的性能达到厂商声称的性能,CLSI EP15-A 标准相对前标准则具有操作简单易行的优点。

本文依据 CLSI EP15-A 对德国罗氏公司生产的 MODU-

LRA E170 电化学发光免疫分析仪乙肝试剂的精密度进行了评价。从本文数据可知,本科新购置的 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪用原装乙肝试剂测定 5 项血清学标志物,无论在正常水平或异常水平,其精密度均达到厂家声称的性能,并且均低于本科的质量目标。

符合率是临床免疫学检测中检测系统或方法重要的分析性能之一。根据《医学实验室质量和能力认可准则在临床免疫学检验领域中的应用说明》的要求,试剂符合率验证可以通过比对或室间质评结果进行考核。在本科室 2013 年参加的 3 次卫生部血清感染学室间质评活动中,罗氏乙肝试剂测定结果与卫生部临床检验中心室间质评结果比较 PT 均为 100%,说明当前性能解释满意,累积性能解释成功。罗氏乙肝检测试剂符合率符合要求,该试剂检测结果能为临床提供诊断与治疗的可靠依据。

线性范围验证是为了验证检测系统包括厂家提供的试剂,其最高检测值与最低检测值之间是否呈线性关系,适用于定量检测试剂,即本文的 HBsAb 试剂。本文通过选取尽量靠近试剂说明书线性的 HBsAb 高、低值血清,按比例配成系列浓度的血清后进行测定,将实测值与理论值比较,发现线性范围与厂家提供的线性范围十分接近,并涵盖在厂家提供的线性范围内。

检出限代表着检测试剂的分析灵敏度,是检测系统和检测试剂的重要分析性能参数。由于方法学不同的原因,罗氏公司只提供了 HBsAg、HBeAg 试剂的检出限,本文通过实验验证,HBsAg 验证检出限为 0.038 IU/mL,HBeAg 验证检出限为 0.219 IU/mL,分别小于试剂盒标称的低于 0.1 IU/mL 和低于 0.3 IU/mL,表明该试剂达到了非常高的分析灵敏度。

综上所述,罗氏 MODULRA E170 电化学发光免疫分析仪乙肝系列试剂具有高精密度和高准确度(符合率),HBsAg、HBeAg 试剂的分析灵敏度优异,HBsAb 试剂的检测线性范围宽,经方法学验证证实,精密度、符合率、线性范围、最低检出限与厂家提供的资料一致,均达到厂家声称的性能标准,符合医学实验室认可准则的要求,能满足临床诊断与治疗的需要。

参考文献

[1] 张阳根,郭健莲.医学实验室认可工作的实践与体会[J].临床检验杂志,2012,30(9):713-714.

[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,2008:1.

[3] CLSI. EP15-A User demonstration of performance for precision and accuracy: Approved guideline[S]. Wayne,PA:CLSI.2001.

[4] 周琦,李少男,李小鹏,等.利用美国国家临床实验室标准化委员会 EP6-A 指南判定线性[J].中华检验医学杂志,2006,29(1):85-86.

[5] 江涛,李军,王昌富,等.基于 ISO15189 要求的免疫学定性试验性能验证方法的探讨[J].国际检验医学杂志,2014,35(3):332-333.

[6] 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.

[7] 吴文清,黄志基.罗氏电化学发光检测系统乙型肝炎表面抗原定量检测方法学评价及性能验证[J].检验医学与临床,2013,10(11):1407-1408.

[8] 王凡,蒋红君.电化学发光免疫分析仪检测甲胎蛋白的性能验证[J].国际检验医学杂志,2011,32(10):1047-1049.