

• 论 著 •

XE-2100 全自动血细胞分析仪质控物的性能验证

许业栋, 钟 青, 刘文毅, 肖 静, 陆 灿, 陈 尘
(深圳市宝安区松岗人民医院检验科, 广东深圳 518105)

摘要:目的 对 Sysmex 公司生产的血液质控物 e-CHECK 的性能进行验证。方法 依据《中华人民共和国医药行业标准 YY/T0702-2008》对血细胞分析仪用质控物(品)的要求, 使用 XE-2100 全自动血液分析仪、电化学发光分析仪等对质控物 e-CHECK (包括水平 1, 水平 2, 水平 3) 的外观、瓶内均匀性、瓶间均匀性、定值、长期稳定性、开瓶有效期稳定性(短期稳定性)、生物安全性等性能进行验证。结果 瓶内均匀性性能验证试验显示: 低水平质控物 PLT 和 PCT 参数的变异系数分别为 4.42%、8.93%, 略微高于 XE-2100 分析仪的重复性要求($CV_{PLT} \leq 4.0\%$, $CV_{PCT} \leq 5.0\%$), 其他各项性能指标包括外观与装量、瓶间均匀性、质控物定值、生物安全性、长期稳定性及开瓶有效期稳定性(短期稳定性)等均符合中华人民共和国医药行业标准对全血质控物的要求。结论 Sysmex 公司生产的血液质控物 e-CHECK 均匀稳定、可靠, 有条件的实验室应使用配套的血液质控物对血液分析仪进行质量控制。

关键词:血液质控物; 稳定性; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.06.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)06-0726-03

Performance verification of control materials for XE-2100 automated hematology analyzer

Xu Yedong, Zhong Qing, Liu Wenyi, Xiao Jing, Lu Can, Chen Chen

(Department of Clinical Laboratory, Baoan District Songgang People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518105, China)

Abstract: Objective To verify the performance of hematology control materials e-CHECK produced by the Sysmex corporation. **Methods** According to the requirements for the control material used in the hematology analyzer in the Pharmaceutical Industry Standards of the People's Republic of China YY/T0702-2008, the XE-2100 automated hematology analyzer and the electrochemiluminescence analyzer were adopted to verify the performance of control material e-CHECK (level 1, level 2, level 3), including appearance, within-bottle homogeneity, between-bottle homogeneity, stated value, long-term stability, corkage valid period stability (short-term stability) and biological safety, etc. **Results** The test of performance verification for within-bottle homogeneity showed that the coefficient of variation of PLT and PCT from the level 1 control materials was 4.42% and 8.93% respectively, which was slightly higher than reproducibility requirements of XE-2100 hematology analyzer($CV_{PLT} \leq 4.0\%$, $CV_{PCT} \leq 5.0\%$), all other performance indicators completely met the requirements of the Pharmaceutical Industry Standards of the People's Republic of China for the whole blood quality control materials, such as appearance and packing volumes, between-bottle homogeneity, stated value of control materials, biological safety, long-term stability, and corkage valid period stability(short-term stability), etc. **Conclusion** The hematology control materials e-CHECK produced by the Sysmex corporation are homogeneous, stable and reliable. The conditional laboratory should use the matched hematology control materials to conduct the quality control on the hematology analyzers.

Key words: hematology control materials; stability; performance verification

近年来, 随着临床实验诊断技术的提高和检测水平的进展, 临床实验室的全面质量控制越来越受到各方面的关注与重视^[1]。而室内质控的目的在于监测检测结果的精密度以提高常规测定的批间和批内检测结果的一致性^[2], 因此临床血液学质控物是调查血液分析仪质量控制和实验室检验结果准确度必不可少的物质, 血液质控物的质量与应用是否得当直接关系实验室检验结果与检测成绩^[3]。血液分析仪用质控物为新鲜血或类血物质, 其基本要求应包括均匀性、稳定性、生物安全性和计量学溯源性^[4], 其中 2 个重要的性能指标, 即为均匀性与稳定性^[5]。实验室需要接近正常人全血状态、均一性及稳定性好的优秀血液质控品, 来进一步提升临床检验的准确性及可靠性^[6-7]。但是质控物不仅存在基质效应、定值、溯源等问题^[8-9], 还存在难于分装均匀、有效期短等缺陷, 因而其稳定性与均匀性是两个特别重要的指标^[10]。从玉隆等^[11]认为实验室不仅可以购买商品化的质控品, 也可以用实验室剩余的检测样品制备质控品。美国临床实验室改进修正法案最终规则(CLIA final rule)的标准 493.1256 中要求: 实验室可使用商品化定值的质控品, 其定值是与实验室所使用方法和仪器有关, 实验室需

要对其定值进行验证。依据《中华人民共和国医药行业标准 YY/T0702-2008》^[12], 在校正调试过的 XE-2100 血液分析仪上, 使用质控模式检测 Sysmex 公司生产的配套质控物 e-CHECK, 对质控物的主要性能指标进行了初步验证, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 XE-2100 全自动血液分析仪(Sysmex 公司生产, 序列号:F6527), cobas e601 电化学发光分析仪(德国罗氏诊断有限公司生产, 序列号:1192-14), 100~1 000 μ L 移液器(BIO-DL 公司生产, 产品编号:720060DL), 比色管; Sysmex 公司生产的原装配套试剂包括稀释液 Cell Pack, 鞘流液 Cell Sheath, 嗜碱性粒细胞溶血素 Stromatolyser-FB, 白细胞分类溶血素 Stromatolyser-4DL, 白细胞分类染液 Stromatolyser-4DS, 有核红细胞溶血素 Stromatolyser-NR lyse, 有核红细胞染液 Stromatolyser-NR dye, 血红蛋白溶血素 SULFOLYSER, 幼稚细胞溶血素 Stromatolyser-IM, 网织红细胞稀释液 Ret Search (II) diluent, 网织红细胞染液 Ret Search(II) dye solution, 质控物 e-CHECK 包括低浓度水平 1(批号:33060810), 正常浓度水

平 2(批号:33070811),高浓度水平 3(批号:33620812),由深圳诺迪盛公司提供。德国罗氏诊断有限公司生产的配套试剂包括 HIV COMPT,批号:17501902,有效期:2014-07;Anti-HCV II,批号:174195-02,有效期:2014-04;HbsAg II,批号:172602-02,有效期:2014-02。新加坡 MP 生物医学亚太私人有限公司(MP Biomedicals Asia Pacific Pri. Ltd.)生产的 WB 试剂,批号:AE3036,有效期:2015-05-01,注册号:国食药监械(进)字 2008 第 3403441 号。

1.2 方法

1.2.1 外观检测 质控物混匀后,取出适量质控物放入比色管中,对光目视检查,应符合要求:足够均匀的类似人血液样物质,不得有凝块。质控物的外包装应完整、标签标识清晰。

1.2.2 装量检测 用适量的通用量具检测,结果应符合要求:质控物装量不少于标示量。

1.2.3 均匀性试验 (1)瓶内均匀性试验。取 3 个水平质控物各 1 支,使用手工模式在 XE-2100 血细胞分析仪上进行测试,重复测量 11 次,除去第 1 次测量结果,剩余 10 个测量结果按照公式(1)至(3)计算测量结果的平均值(\bar{x})、标准差(s)及变异系数(CV),结果应不低于 XE-2100 血细胞分析仪检测正常

水平新鲜血批内声称的重复性要求。公式(1): $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$;公式

(2): $s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$;公式(3): $CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$;式中为 n 测量次数; x_i 为指定参数第 i 次测量值。(2)瓶间均匀性试验。取同批号的 10 瓶质控物,每瓶质控物测试 1 次,按照公式(1)、(2)计算各参数 10 个测量结果的 \bar{x}_1 和 s_1 ;另用上述 10 瓶质控物中的 1 瓶连续测试 10 次,按照公式(1)、(2)计算各参数 10 个测量结果的 \bar{x}_2 和 s_2 ;按照公式(4)、(5)计算瓶间均匀性 CV (%)。公式(4): $s_{\text{瓶间}} = \sqrt{s_1^2 - s_2^2}$;公式(5): $CV_{\text{瓶间}}(\%) = s_{\text{瓶间}} / \bar{x} \times 100$,当 $s_1 < s_2$ 时,令 $CV_{\text{瓶间}} = 0$ 。

1.2.4 质控物定值及范围 (1)质控物定值程序。Sysmex 公司提供参考值(Target \pm Limit)的赋值方法为血液质控物的表示值(Target):由 Sysmex 公司的标准仪器测定结果的平均值;血液质控物的限值(Limit)的 3 种计算方法:①对于日间变化较少的项目如 WBC、RBC、HGB、MCH、5-DIFF,采用市场上仪器的偏差 + 院内仪器固有的日间变动计算 Limit;②对于日间有变化的项目如 MCV、PLT,采用上一条的要因 + 质控血液自身的变动要因计算 Limit;③对于受仪器性能影响的项目如灵敏度 DIFF-X、DIFF-Y, RBC-X, RBC-Y 等,按照测定标本时对于仪器性能保证上的规定计算 Limit。计算公式为 Limit 范围(%)

= $\sqrt{(\text{市场上仪器的偏差} \times 3)^2 + (\text{院内仪器的日间变动} \times 3)^2}$
上式的偏差即 $CV\%$ 。(2)在用校准物校准后的血细胞分析仪上测试定值质控物,结果应符合 Sysmex 公司指定的参考范围要求。

1.2.5 生物安全性 使用有国家食品药品监督管理局批准的试剂盒(酶联免疫吸附试验)对质控物的 HbsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体进行检测,按试剂盒说明书要求随机测试 1 瓶,结果均应符合要求:HbsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体检测应为阴性。

1.2.6 稳定性 在长期稳定性测试过程中,质控物应在 Sysmex 公司规定的条件下进行贮存(2~8 °C)。取效期内及效期后的质控物各 1 支进行测试,结果应满足要求:(1)质控物应规定有效期(至少 90 d)及开瓶有效期(至少 7 d);(2)定值质控物的偏差范围应满足 Sysmex 公司声称的参考范围。在有效期前一个开瓶有效期周期,取 1 支质控物,每日进行测试直至到

期 1 d 后,结果应满足要求:(1)质控物应规定有效期(至少 90 d)及开瓶有效期(至少 7 d);(2)定值质控物的偏差范围应满足 Sysmex 公司声称的参考范围。偏差的计算公式:绝对偏差 = 测定均值 - 靶值,式中靶值即 Sysmex 公司提供的质控物 Target。

2 结 果

2.1 外观与装量 将质控物从 2~8 °C 冰箱取出后室温放置 15 min,充分混匀后质控物为暗红色血液样物质、无凝块,外包装完整、标签标示清晰,使用移液器检测每瓶不少于标示量(4.5 mL)。

2.2 瓶内均匀性试验结果 见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”。

2.3 瓶间均匀性测试结果 见表 2。

表 2 瓶间均匀性测试结果($CV\%$)

项目	水平 1	水平 2	水平 3	国家标准
WBC	0.0	0.0	0.8	≤2.5
RBC	0.5	0.0	0.0	≤1.0
HGB	0.0	0.4	0.2	≤1.0
HCT	0.7	0.0	0.0	≤1.0
MCV	0.3	0.5	0.1	≤1.0
PLT	0.0	0.0	0.6	≤4.0

2.4 定值质控物检测结果 见表 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”。

2.5 生物安全性 每个水平随机抽取 1 瓶质控物,使用德国罗氏诊断有限公司生产的 HIV COMPT、Anti-HCV II、HbsAg II 试剂,分别对质控物的 HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体、HBsAg 进行检测,结果显示 HCV 抗体、HBsAg 均为阴性,HIV-1/HIV-2 抗体为弱阳性。怀疑全血质控物内的某种添加剂可能对电化学发光检测 HIV-1/HIV-2 抗体有干扰,随后使用新加坡 MP 生物医学亚太私人有限公司生产的 WB(免疫印迹法)试剂检测 HIV-1/HIV-2 抗体,结果为阴性。

2.6 稳定性检测结果 见表 4(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”。

3 讨 论

血液分析仪是临床检验实验室最基本的仪器之一,全血细胞计数的室内质控和室间质评都离不开全血质控物^[13]。全血质控物不仅是一种生物制品试剂,也是临床检验必备试剂。其目的是监测“仪器→试剂(控制)→样本→操作者”构成的测定系统存在的误差,因此,在规定期限内要求全血细胞质控物十分稳定^[14]。

为了准确性检查,质控程序应该规律性的执行(至少是日常性的),所有的分析仪制造商应生产或提供能购买到的质控物以监控仪器的性能。因此,使用血液分析仪的实验室,如选用仪器生产厂家推荐的试剂、校准物时,可按仪器使用说明书的要求,对检测系统的性能进行验证^[15]。本文依据《中华人民共和国医药行业标准 YY/T0702-2008》对于血细胞分析仪用质控物(品)的要求,对 Sysmex 公司生产的商品化血液质控物 e-CHECK(XE)的部分性能进行了初步验证。

从本文验证结果可以看到,质控物外观均匀、无凝块、样本量足够(≥ 4.5 mL)。瓶内均匀性实验结果显示:除了低水平(水平 1)的 PLT、PCT 变异系数为 4.42%、8.93%(仪器重复性要求分别为小于或等于 4%、5%),其他参数均符合仪器重复性要求。由于各水平/参数重复性要求是对正常水平新鲜血而言,对低水平的重复性要求可能要比正常水平高些,因为变异系数的大小同时受平均数和标准差两个统计量的影响,本文

低水平和正常水平 PLT 瓶内均匀性试验结果分别是 $(57.60 \pm 2.55) \times 10^9/L$, $(225.80 \pm 3.12) \times 10^9/L$; 低水平和正常水平 PCT 瓶内均匀性试验结果分别是 0.056 ± 0.005 , 0.221 ± 0.006 , 可以看出, 不管是 PLT 还是 PCT, 低水平与正常水平的标准差相差不大, 但平均数相差约 3 倍, 因而低水平质控物中这两个参数的 CV 值没有符合 Sysmex XE-2100 分析仪的重复性要求, 这也可能是试验过程中的偶然误差引起的, CLSI H26-A2 文件要求: 不推荐使用低值质量控制品, 可能是低值质控品的 CV 值不容易控制。这两个参数在以后的实验中还有待继续观察。质控物瓶间均匀性试验结果均符合国家标准, 即 $WBC \leq 2.5\%$ 、 $RBC \leq 1.0\%$ 、 $HGB \leq 1.0\%$ 、 $HCT \leq 1.0\%$ 、 $MCV \leq 1.0\%$ 、 $PLT \leq 4.0\%$ 。质控物定值实验结果均在 Sysmex 公司提供的参考范围内。质控物生物安全性检测 HBsAg、HIV-1/HIV-2 抗体、HCV 抗体, 结果均为阴性。质控物长期稳定性(90 d)和质控物开瓶有效期(7 d)稳定性实验结果显示, 所有参数均远远小于 Sysmex 公司提供的限值(Target), 几个主要参数包括 RBC、HCT、HGB、WBC、PLT 的偏差, 也远远小于 CLIA'88 推荐的允许偏倚范围。

本文实验结果绝大部分满足《中华人民共和国医药行业标准 YY/T0702-2008》对血细胞分析仪用质控物(品)的技术要求, 基本适用于临床实验室对血细胞分析仪进行室内质量控制和室间质量评价。

总之, 临床实验室应根据仪器制造商说明书、权威机构的要求来选择和使用校准品和质控品^[16], 我国《医学实验室质量和能力认可准则在血液学检验领域的应用说明》要求, 血液分析仪的室内质量控制应至少使用 2 个浓度水平(正常和异常水平)的质量控制品, 推荐使用配套质量控制品^[17], 这样才能保证准确和可靠的检验结果。

参考文献

- [1] 寇高潮. 血液质控物在临床实验室中的应用探讨[J]. 吉林医学, 2012, 33(36): 7843.
- [2] 祝峰, 周宁. 应重视全血细胞质控物瓶间差导致的假失控[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2012, 32(8): 1177.
- [3] 兰梅. 血液质控物在实验室实践中的具体运用[J]. 中国民族民间医药, 2009, 18(18): 1135.
- [4] 迟戈, 李非, 王亚南, 等. 血液分析仪用校准物和质控物标准解读[J]. 中国医疗器械信息, 2008, 14(9): 79.
- [5] 易准. 临床检验全血细胞质控物性能评价分析[J]. 中国中医药资讯, 2011, 3(17): 77.
- [6] 吴静一. 做好血液流变学检验质量控制的探讨[J]. 中国社区医师, 2012, 14(17): 1007.
- [7] 陈玉碧. 血战血液检验室间质量评价分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 28(19): 1672.
- [8] 李云飞, 马建锋. Bio-Rad 血细胞质控物基质效应分析[J]. 临床检验杂志, 2005, 25(3): 214.
- [9] 彭明婷, 申子瑜. 血细胞溯源体系的建立及有关问题的探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(3): 132-133.
- [10] 马斌国. 临床检验全血细胞质控物性能评价的探讨[J]. 中国医药, 2010, 5(5): 36-37.
- [11] 丛玉隆, 乐家新, 袁家颖. 实用血细胞分析技术与临床[M]. 北京: 人民军医出版社, 2003: 1048.
- [12] 丛玉隆, 杨红玮, 张宏. 中华人民共和国医药行业标准 YY/T0702-2008: 血细胞分析仪用质控物(品)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [13] 张琳. 一种全血质控物的质量评价[J]. 中外健康文摘, 2011, 8(18): 8.
- [14] 赵雷, 唐晓英, 颜萧. 血细胞分析仪质控物的初步研究[J]. 生命科学仪器, 2007, 5(3): 35.
- [15] 彭明婷. 血液分析仪质量控制的问题与对策[J]. 检验医学, 2008, 23(6): 551.
- [16] 王毓三, 申子瑜, 叶应妩. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 16.
- [17] 胡晓波. 临床检验基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 2012: 48.

(收稿日期: 2014-11-08)

(上接第 725 页)

- 血管内皮生长因子-C 的表达及其与淋巴管生成、淋巴结转移的关系[J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(11): 1747.
- [20] 韩艳春, 刘鲁英, 王霞, 等. 乳腺癌组织中 VEGF-C 和 uPA 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2010, 20(3): 296-299.
- [21] 马小军, 蒲永东, 何建苗, 等. VEGF-C 及其受体 VEGFR3 在乳腺癌的表达, 定位及其在淋巴结转移中的作用[J]. 临床肿瘤学杂志, 2007, 12(10): 765-770.
- [22] 高砚春, 吴诚义. VEGF-C 在人乳腺癌中的表达及意义[J]. 重庆医科大学学报, 2006, 31(6): 848-850.
- [23] Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 161(2): 851-858.
- [24] Ferrara N. Vascular endothelial growth factor as a target for anti-cancer therapy[J]. Oncologist, 2004, 9(1): 2-10.
- [25] Des Guetz G, Uzzan B, Nicolas P, et al. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature[J]. Br J Cancer, 2006, 94(12): 1823-1832.
- [26] 严瑞兰, 惠宏襄. 血管内皮生长因子在上皮性卵巢癌中的表达[J]. 第四军医大学学报, 1999, 20(4): 291-293.

- [27] Adams J, Carder PJ, Downey S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum, and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen [J]. Cancer Res, 2000, 60(11): 2898-2905.
- [28] Ferrer FA, Miller LJ, Andrawis RI, et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF) expression in human prostate cancer: in situ and in vitro expression of VEGF by human prostate cancer cells[J]. J Urol, 1997, 157(6): 2329-2333.
- [29] Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation[J]. Nat Med, 2003, 9(6): 685-693.
- [30] Karpanen T, Egeblad M, Karkkainen MJ, et al. Vascular endothelial growth factor C promotes tumor lymph angiogenesis and intralymphatic tumor growth[J]. Cancer Res, 2001, 61(5): 1786-1790.
- [31] Kawakami M, Furuhata T, Kimura Y, et al. Quantification of vascular endothelial growth factor-C and its receptor-3 messenger RNA with real-time quantitative polymerase chain reaction as a predictor of lymph node metastasis in human colorectal cancer [J]. Surgery, 2003, 133(3): 300-308.

(收稿日期: 2014-10-28)